

**IN VITRO UNTERSUCHUNGEN
ZUR VERBESSERUNG DER AUFLÖSUNG
CHOLESTERINHALTIGER
GALLENBLASENSTEINE
DURCH
STOSSWELLENZERTRÜMMERUNG**

Michael Neubrand

Aus der Medizinischen Klinik II, Klinikum Großhadern
der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. G. Paumgartner

**IN VITRO UNTERSUCHUNGEN ZUR VERBESSERUNG DER
AUFLÖSUNG CHOLESTERINEHALTIGER GALLENBLASENSTEINE
DURCH STOSSWELLENZERTRÜMMERUNG**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Michael Neubrand
aus
München
1986

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. T. Sauerbruch

Mitberichterstatter: 1. Prof. Dr. G. Paumgartner
2. Prof. Dr. A. Baethmann

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Dr. F. Stellaard

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 27.11.1986

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
EINLEITUNG	1
1. GRUNDLAGEN	3
1.1 Epidemiologie cholesterinhaltiger Gallenblasensteine	3
1.2 Pathogenese cholesterinhaltiger Gallenblasensteine	4
1.2.1 Die Rolle der Mizellenbildung bei der Cholesterinlöslichkeit	4
1.2.2 Die Rolle der Cholesterinsättigung	5
1.2.3 Die Rolle der Nukleationsfaktoren	7
1.2.4 Die Rolle der "inhibierenden Faktoren"	8
1.2.5 Die Rolle der Gallenblase	9
1.2.6 Das Wachstum cholesterinhaltiger Gallenblasensteine	9
1.3 Therapie cholesterinhaltiger Gallenblasensteine	11
1.3.1 Abwartende Haltung und diätetische Maßnahmen	11
1.3.2 Cholecystektomie	14
1.3.3 Medikamentöse Litholyse	14
1.3.3.1 Die Bedeutung der Gallenblasenfunktion	16
1.3.3.2 Die Bedeutung des Steintyps	16
1.3.3.3 Die Bedeutung der biliären Cholesterinuntersättigung	17
1.3.3.4 Die Bedeutung der Steingröße	17
1.4 Stoßwellenlithotripsie als Möglichkeit zur Zerkleinerung von Gallenblasensteinen?	21
1.4.1 Physikalische Grundlagen	21
1.4.2 Verträglichkeit der Stoßwellen am biologischen Gewebe	24

2.	FRAGESTELLUNG	26
3.	MATERIAL UND METHODIK	27
3.1	Auswahl der Gallenblasensteine	27
3.1.1	Bestimmung des Cholesteringehaltes der Gallenblasensteine	27
3.1.2	Elektronenmikroskopische Untersuchung der zerkleinerten Gallensteine	28
3.1.3	Zerkleinerung der Steine	28
3.2	Versuchsaufbau und Versuchsdurchführung	29
3.2.1	Herstellen einer Modellgalle als Lösungsmedium	30
3.2.2	Bestimmung des Cholesterins in der Lösung	31
3.2.3	Bestimmung des Gewichtsverlustes der Steine	31
3.2.4	Polarisationsmikroskopische Untersuchung der Lösung	31
3.2.5	Versuchsdurchführung	32
4.	ERGEBNISSE	36
4.1	Ergebnis der Steinauflösung	36
4.2	Ergebnisse der Konzentrationsbestimmung und der polarisationsmikroskopischen Untersuchung	54
4.3	Ergebnis der elektronenmikroskopischen Untersuchung	55
5.	DISKUSSION	60
5.1	Modelldiskussion	60
5.2	Ergebnisdiskussion	63
5.3	Allgemeine Diskussion	71
6.	ZUSAMMENFASSUNG	74
7.	LITERATURVERZEICHNIS	76

EINLEITUNG

Zur Zeit des Hippokrates hatten die Griechen ein hypothetisches System entworfen, wonach die Krankheitsmechanismen aus dem Ungleichgewicht der vier Grundsäfte des Körpers erklärt wurden (39). Diese Theorie hatte sich analog zur griechischen Metaphysik entwickelt, in der die vier Grundelemente Wasser, Luft, Feuer und Erde mit ihren spezifischen Qualitäten feucht, kalt, heiß und trocken das gesamte Universum im Gleichgewicht hielten (3). Das Schlüsselprinzip lag darin, daß alle Körperflüssigkeiten aus verschiedenen Anteilen von Blut (warm und feucht), Schleim (kalt und feucht), gelber Galle (warm und trocken) und schwarzer Galle (kalt und trocken) zusammengesetzt waren. Überschuß oder Mangel verursachte Krankheit. Der griechische Arzt Galen erweiterte dieses Konzept, indem er alle Menschen in 4 Typen einteilte: Phlegmatiker (Schleim), Sanguiniker (Blut), Choleriker (gelbe Galle) und Melancholiker (schwarze Galle) (74). Die Galle nahm damals also eine zentrale Stellung in der Krankheits- und Typenlehre ein. Gallensteine stellen in diesem System konkretisierte Säfte dar, womit man gar nicht so Unrecht hatte.

Auch die Chinesen brachten die physiologischen Funktionen in ein humorales Schema. Ihr Medizinkompandium behauptete, daß jede Emotion seinen Sitz in einem eigenen Organ habe (40). Das Glück wohne im Herzen, die Sorge in der Lunge, die Seele, der Gedanke und der Zorn in der Leber und der Mut in der Gallenblase. Auf dieser traditionellen Grundlage verordneten sie bei Übelkeit die Galle wilder Tiere (z.B. Bärengalle), um den Lebensmut des Kranken zu stärken. Daß sie dabei durch die Verabreichung von Bärengalle, die einen hohen Anteil an Ursodesoxycholsäure enthält, eventuell vorhandene Gallensteine mittherapierten, mag

ihnen damals nicht bewußt gewesen sein. Heute wird diese Gallensäure jedenfalls primär zur Behandlung der Gallensteine eingesetzt. Die gleichzeitige Verringerung eventuell vorhandener dyspeptischer Beschwerden stellt für die heutige Medizin nur noch eine erfreuliche Nebenwirkung dar (84). In der neuzeitlichen Literatur wurde die aktive Gallensteintherapie schon 1742 beschrieben, als J.L. Petit die Punktion der Gallenblase mit dem Troicart und zur Lithotomie die Inzision empfahl (101). Langenbuch veröffentlichte 1882 erste Berichte über eine Cholesystektomie beim Menschen (68). 1972 wurde dieses chirurgische Therapiekonzept durch die medikamentöse Litholyse mit Hilfe bestimmter Gallensäuren erweitert (27). Als 1980 über die ersten Erfolge der extracorporalen Stoßwellenlithotripsie (ESWL) von Nierensteinen im menschlichen Körper berichtet wurde (21), stellte sich die Frage, inwieweit diese Behandlungsmethode auch auf Gallensteine übertragbar ist (15). Ziel der vorliegenden Arbeit ist es nun festzustellen, ob durch die Fragmentierung von cholesterinhaltigen Gallenblasensteinen durch Stoßwellen eine Beschleunigung ihrer Auflösung in einer mizellaren Gallensäuren (GS)-Lecithin-Lösung zu erreichen ist. Die Untersuchungen sollten einen Beitrag zur Klärung der Frage liefern, ob es sinnvoll ist, ergänzend zur ESWL eine medikamentöse Litholyse mit GS einzuleiten.

1. GRUNDLAGEN

1.1 Epidemiologie cholesterinhaltiger Gallenblasensteine

In Ländern westlicher Zivilisation haben etwa 75 % aller Steinträger Gallenblasensteine mit einem Cholesteringehalt von über 80 % (128). Epidemiologische Daten über die Häufigkeit dieses Gallensteintypes stammen vorwiegend aus Autopsiestudien. Dabei wird eine Morbiditätsrate für diese Erkrankung bei Männern zwischen 10 % und 30 % und bei Frauen zwischen 20 % und 60 % angegeben (7, 72, 77, 132). Die größte deutsche Studie an 11.840 verstorbenen Personen, die zwischen 1940 und 1975 autopsiert worden waren (8), fand bei 13,1 % der Männer und bei 33,7 % der Frauen Gallenblasensteine. Das heißt, Frauen weisen etwa doppelt so häufig eine Cholelithiasis auf wie Männer. Doch diese Studien liefern kein eindeutiges Bild über das Vorkommen in einer repräsentativen Bevölkerungsgruppe. Zum einen ist denkbar, daß in Sektionsstatistiken Patienten selektiert wurden, die an Krankheiten verstarben, die mit einer erhöhten Inzidenz an Gallensteinen einhergehen, wie zum Beispiel Diabetes mellitus (43), Erkrankungen des terminalen Ileums (50) oder Hyperlipoproteinämie Typ IV (31). Zum anderen gehen in diese Statistiken auch auf der Intensivstation verstorbene Personen ein, die über einen längeren Zeitraum parenteral ernährt werden mußten, wodurch wiederum die Entwicklung von Gallensteinen begünstigt wird (102). Darüberhinaus kommen vorwiegend alte Menschen zur Sektion. Da mit zunehmendem Alter aber die Häufigkeit der Cholelithiasis zunimmt - in einer Studie hatten 63 % der über 70jährigen Frauen Gallensteine (72) - könnten Sektionsstatistiken die wahre Prävalenz von Gallensteinen überschätzen (62). Anders sieht dies bei prospektiv geplan-

ten sonographischen Querschnittsuntersuchungen aus (47, 62). In einer schwedischen Studie fand man in einer Gruppe der circa 50jährigen Frauen 11,2 % Gallensteinträgerinnen und 9,7 % Cholecystektomierte. In derselben Stadt hatte eine frühere Autopsiestudie 39,5 % Gallensteinträgerinnen unter den 50-59jährigen Frauen ermittelt (72). In anderen sonographischen Studien hatten 18 % bzw. 27 % (9, 47) Gallensteine. Die Geschlechterverteilung bestätigte sich. Sie hängt möglicherweise auch mit der Tatsache zusammen, daß Frauen nach mehr als drei Schwangerschaften häufiger Gallensteine entwickeln als kinderlose Frauen (63). Darüberhinaus wird berichtet, daß eine mehrjährige kontrazeptive Behandlung (12) zumindest innerhalb der ersten vier Jahre zur vermehrten Gallensteinbildung führt.

Ein weiterer wichtiger Risikofaktor ist das Übergewicht (13). Besonders in Ländern mit hohem Lebensstandard zeigt sich daher auch eine deutliche Zunahme der Cholelithiasis. Ursächlich wird eine kalorien- und cholesterinreiche und faserarme Ernährung diskutiert (105, 121).

Welche Entwicklungsmechanismen nun im Einzelnen bei der Gallensteinentstehung eine Rolle spielen, soll das folgende Kapitel klären.

1.2 Pathogenese cholesterinhaltiger Gallenblasensteine

1.2.1 Die Rolle der Mizellenbildung bei der Cholesterinlöslichkeit

Galle besteht zu 90 % aus Wasser (92). Darin sind vor allem organische Substanzen (Cholesterin, Phospholipide, Gallensäuren und Bilirubin) und in geringer Menge auch anorganische Substanzen (Elektrolyte und Calciumphosphat) gelöst

(92). Cholesterin kann normalerweise im wäßrigen Milieu nicht in Lösung gehalten werden, sondern kristallisiert sofort aus. Trotzdem liegt Cholesterin in der Galle bis zu einem Anteil von 10 % der Gesamtlipide in solubilisierter Form vor (92). Ein wichtiger Schritt für das Verständnis der Cholesterinlöslichkeit in der Galle war die Entwicklung der mizellaren Theorie von Admirand und Small (2).

Demnach sind zwei Lipide dafür verantwortlich, Cholesterin in Lösung zu halten, nämlich Gallensäuren und Lecithin. Gallensäuren sind Detergentien mit der Tendenz, Mizellen zu bilden. Dies geschieht auf Grund ihrer amphipatischen Eigenschaften. Sie bestehen aus polaren, das heißt wasserlöslichen Gruppen auf der einen und unpolaren, das heißt fettlöslichen Gruppen auf der anderen Seite. Im wäßrigen Milieu aggregieren die Gallensäuren derartig, daß die polaren Anteile nach außen zeigen, während sich die unpolaren Gruppen nach innen richten. So bilden sich Mizellen, in deren lipophilen Kernen Freiräume entstehen, in denen das Cholesterin gebunden werden kann. Durch die Anwesenheit von Phospholipiden (vor allem Lecithin) werden die Gallensäuren auseinandergedrängt. Dadurch entstehen "gemischte Mizellen" mit einem vergrößerten hydrophoben Zentrum.

1.2.2 Die Rolle der Cholesterinsättigung

Diese "gemischten Mizellen" besitzen eine bestimmte Kapazität, Cholesterin in Lösung zu halten. Durch in vitro Studien wurde die Cholesterinlöslichkeit für verschiedene Gallensäure-, Phospholipid- und Cholesterinverhältnisse ermittelt (19). Hieraus wurde ein "lithogener Index" berechnet. Bei einem Wert von 1 ist die Sättigungsgrenze erreicht. Eine cholesterinübersättigte Galle ist ein wichtiger Co-Fak-

tor für die Bildung cholesterinhaltiger Gallenblasensteine (13). Sie kann durch eine erhöhte Cholesterinsekretion oder durch eine Reduzierung der biliären Ausscheidung von Gallensalzen bedingt sein.

Faktoren, die eine vermehrte Cholesterinsekretion in die Galle verursachen sind: Übergewicht (36), Therapie mit lipidsenkenden Arzneimitteln wie Clofibrat (20), hochkalorische, cholesterinreiche und faserarme Diät (20), Alter (124) und Hyperlipoproteinämie Typ IV (20).

Faktoren für einen verringerten Gallensäurepool stellen Erkrankungen des terminalen Ileums (24) und vererbte Krankheiten (z.B. 12a Hydroxylasemangel) dar (20).

In beiden Fällen entsteht eine an Cholesterin übersättigte Galle, die dazu tendiert, Cholesterinkristalle zu bilden.

Die mizellare Löslichkeitstheorie ist jedoch komplexer als ursprünglich angenommen. Untersuchungen haben nämlich ergeben, daß Galle an Cholesterin übersättigt sein kann, ohne daß Cholesterinkristalle ausfallen (130). Als Erklärung für dieses Phänomen kommen zwei Möglichkeiten in Betracht. Einmal könnte erst die Anwesenheit sogenannter Nukleationsfaktoren zum Ausfällen von Cholesterinkristallen führen (42, 69, 88). Andererseits kann bei Anwesenheit sogenannter "inhibierender Faktoren" Cholesterin selbst in rechnerisch übersättigter Galle in Lösung gehalten werden (55, 65).

Lediglich Galle mit sehr hohem Sättigungsindex zeigt einen deutlichen Trend zur "homogenen" Kristallisation, das heißt, in dieser "labilen" Galle fällt Cholesterin in Form von monohydrierten Cholesterinkristallen aus, ohne daß Nukleationskeime eine induzierende Rolle gespielt haben.

1.2.3 Die Rolle der Nukleationsfaktoren

Lebergalle besitzt einen höheren Sättigungsindex als Gallenblasengalle (96, 117). Trotzdem benötigt die Lebergalle bei Steinpatienten längere Zeit bis zur Cholesterinkristallbildung als deren Gallenblasengalle (45). Weiter kann durch Mischen einer großen Menge normaler, steinloser Galle mit einer kleinen Menge Steinträgergalle die Nukleationszeit bis zur Kristallbildung beschleunigt werden (17). Diese Beobachtungen legen den Schluß nahe, daß in übersättigter "metastabiler" Gallenblasengalle bestimmte Partikel als Nukleationsfaktoren für eine heterogene Kristallisation wirken. Als Partikel werden Substanzen wie Mucus (70), Calciumbilirubin (88), Calciumcarbonat (88), Bakterien sowie hitzeinstabile Proteine diskutiert (42). Im Tierexperiment beobachtete man zu Beginn der Gallensteinbildung eine Hypersekretion von Mucus (69). Aspirin unterdrückte diese Hypersekretion und damit auch die Gallensteinbildung. Diese Beobachtung legt die Vermutung nahe, daß zu Beginn der Steinbildung eine heterogene Kristallisation, induziert durch Glycoproteine, stattgefunden hat.

Allerdings wird die Nukleationstheorie nicht von allen Gruppen anerkannt. Auch mucushaltige übersättigte Galle muß nicht immer zur Gallensteinbildung neigen (54). Sie vermag unter bestimmten, noch nicht eindeutig geklärten Umständen, Cholesterin über einen längeren Zeitraum in Lösung zu halten. Andererseits verkürzte aus einer steinfreien Galle isolierter Mucus in der von Kristallen bereinigten Galle eines Steinträgers die Nukleationszeit für Cholesterinkristalle erheblich (42). Warum führt derselbe Mucus in der einen Galle zur Kristallbildung und in der anderen nicht? Sind auch noch anderen Nukleationskeime für die

Steinbildung mitverantwortlich, oder spielen auch Faktoren eine Rolle, die die Kristallisation verhindern können?

1.2.4 Die Rolle der "inhibierenden Faktoren"

In der Tat liegen Arbeiten vor, in denen bestimmte Substanzen die Kristallisation von Cholesterin in übersättigter Galle zu verhindern oder zumindest zu verzögern scheinen. Eine bedeutende Rolle spielen dabei nach Holzbach et al einige Proteine in der menschlichen Galle (65). Seine Gruppe wies nach, daß die Apolipoproteine AI und AII in menschlicher Galle einen verzögernden Effekt ausüben. Sie sollen in übersättigter Galle stabilisierend auf kleine Vesikel wirken, die von den Hepatocyten sezerniert werden und einen relativ hohen Cholesteringehalt besitzen. In lithogener Galle dagegen seien diese Vesikel besonders instabil und aggregieren zu polarisationsmikroskopisch erkennbaren Flüssigkristallen, sog. "liquid crystals". Diese "liquid crystals" besitzen hohe Kapazität, Cholesterin in Lösung zu halten. Werden sie aber über einen längeren Zeitraum in der Galle zurückgehalten und erreichen sie eine bestimmte Konzentration, agglomerieren letztendlich auch sie zu festen Cholesterinkristallen (55). "Liquid crystals" wurden bereits 1973 von Olszewski in natürlicher Galle nachgewiesen (99). Sie erscheinen häufig in Gallenblasengalle, die frei von Cholesterinkristallen und Gallensteinen ist (18). Je nach Gallezusammensetzung kommt es früher oder später zur Bildung solider Cholesterinkristalle. Igimi, Salvioli und Carey zeigten, daß besonders die Anwesenheit hydrophiler Gallensäuren wie Ursodesoxycholsäure (UDC) und Hyodesoxycholsäure die Bildung von "liquid crystals" er-

leichtert (112). Dies wird bei der Therapie mit Gallensäuren ausgenützt (s. 1.3.3).

1.2.5 Die Rolle der Gallenblase

Gallenblasen können vor der Entstehung von Gallensteinen zwei Funktionsstörungen aufweisen. Erstens sezernieren sie, wie bereits erwähnt, in sehr starkem Maße Mucus (70). Dieser Mucus bestehend aus Glycoproteinen wird als Nukleationskeim für Cholesterinkristalle (70) oder als Wachstumskeim für Gallensteine diskutiert (130). Zweitens ist die Gallenblasenmotilität verändert (29). Sludge und liquid crystals werden vermehrt in der Gallenblase zurückbehalten. Ab einem bestimmten Zeitpunkt agglomerieren die "liquid crystals" zu monohydrierten Cholesterinkristallen. Gleichzeitig nimmt die Menge der liquid crystals ab (55). Auch während des Fastens und der parenteralen Ernährung erfolgt kaum ein Reiz auf die Gallenblasenmuskulatur. Die Galle konzentriert sich in der Gallenblase, die biliäre Gallensäuresekretion sinkt, und gleichzeitig steigt der Cholesterinanteil relativ dazu an (84). Dadurch kommt es zu einem Anstieg des Sättigungsindex. Die Bereitschaft zur Steinbildung steigt. Hat einmal die Kristallbildung eingesetzt, so ist ein wesentlicher Schritt in der Gallensteinentstehung vollzogen, und das Wachstum setzt ein.

1.2.6 Das Wachstum cholesterinhaltiger Gallenblasensteine

Der Übergang von liquid crystals zu monohydrierten Cholesterinkristallen kann Tage und Wochen dauern. Die Faktoren, die diesen Vorgang möglicherweise beschleunigen oder

verlangsamen sind oben diskutiert. Auf welche Weise nun das eigentliche Wachstum vor sich geht, ist nicht so detailliert erforscht. Nach in vitro Untersuchungen (123) und Studien am Affen (107) scheinen im wesentlichen zwei Mechanismen eine Rolle zu spielen. Bei der homogenen Kristallisation und der anschließenden Ausbildung reiner Cholesterinsteine müßten die gebildeten Kristalle eine Affinität zueinander besitzen und zu Kristallkomplexen bis zur Formung kleiner Gallensteine aggregieren. Anschließend lagert sich Schicht um Schicht an diesen kleinen Stein an. Bei der heterogenen Nukleation müßte das Cholesterin an einen Nukleationskeim präzipitieren. Damit diese Präzipitation stattfindet, muß nach den Beobachtungen von Whiting und Watts ein bestimmter Sättigungsindex erreicht sein. Dabei spielte es keine Rolle, ob die Galle von Steinträgern stammte oder nicht (130). Bei menschlichen Gallensteinen findet man häufig im Zentrum amorphe Substanzen (Ca^{2+} oder Pigmente). Um dieses Zentrum ordnen sich die Kristalle rechtwinklig zur Oberfläche an (107). Zusätzlich bilden sich im Stein häufig Pigment oder Ca^{2+} -Salz enthaltende Ringe, die die Cholesterinschichten voneinander trennen (75, 129). Diese Ringe stellen möglicherweise eine Erklärung dafür dar, daß das Steinwachstum phasenweise unterbrochen wird, oder umgekehrt der Auflösungs Vorgang bei medikamentöser Litholyse zum Stillstand kommt (75, 129). Für den Kliniker stellt sich hier die Frage, welche Steine überhaupt einer medikamentösen Therapie zugänglich gemacht werden können, und welche Steine nicht behandelt werden müssen.

1.3 Therapie cholesterinhaltiger Gallenblasensteine

Seit der breiten klinischen Anwendung der Oberbauchsonographie werden Gallensteine zufällig entdeckt, und es stellt sich die Frage nach dem therapeutischen Vorgehen bei Gallensteinträgern. Grundsätzlich bestehen folgende Möglichkeiten:

1.3.1 Abwartende Haltung und diätetische Maßnahmen

1.3.2 Cholecystektomie

1.3.3 Medikamentöse Litholyse

ad 1.3.1 Zur Beurteilung der Frage, wann eine abwartende Haltung einer aktiven Therapie vorzuziehen ist, bedarf es einer Unterscheidung zwischen asymptomatischen Gallensteinträgern und Gallensteinkranken. In die Gruppe der asymptomatischen Gallensteinträger gehören Menschen, bei denen als Zufallsbefund Gallensteine entdeckt worden waren, und die bis dahin noch keine auf Gallensteine zu beziehende Beschwerden entwickelt hatten. In die Gruppe der Gallensteinkranken sind die Patienten mit Gallensteinen einzuordnen, die in der Anamnese rezidivierende biliäre Schmerzen, eine Cholecystitis oder eine akute Pankreatitis aufweisen. Es ist schwierig zu entscheiden, in welche Gruppe Patienten mit nachgewiesenen Gallensteinen einzuordnen sind, die über unspezifische gastrointestinale Beschwerden, wie Speisunverträglichkeit, Übelkeit, Sodbrennen und Verdauungsbeschwerden klagen. Studien weisen darauf hin, daß solche Beschwerden bei Gallensteinträgern nicht häufiger sind als bei Personen ohne Gallensteine (6). Für einen eindeutigen

Aufschluß darüber, wie häufig Gallensteinträger zum Gallensteinkranken werden, bedarf es noch langfristiger Beobachtungen der symptomlosen Gallensteinträger. Bisher bestehen folgende Erkenntnisse (46, 73, 83, 116, 126): Wenckert und Robertson beobachteten 781 Gallensteinträger über einen Zeitraum von 11 Jahren. Die Hälfte von ihnen blieb asymptomatisch, während ein Drittel Koliken entwickelten, und 17 % sogar unter Komplikationen zu leiden hatten, wie akuter Cholecystitis, Pankreatitis und obstruktivem Ikterus (126). Lund kam in seiner Studie zu ähnlichen Prozentverhältnissen (73). Erwähnenswert bei diesen Untersuchungen ist jedoch, daß die Patienten schon bei der Entdeckung der Gallensteine vorselektioniert waren. In der Studie von Wenckert waren sie zur Cholecystographie nicht mit symptomlosen Steinen erschienen. Symptome hatten sie bereits zum Arzt geführt. Dies schlossen Gracie und Ransohoff in ihrer Studie aus (46). Sie beobachteten 11 - 24 Jahre lang 123 Personen, bei denen Gallensteine während einer Screeninguntersuchung zufällig entdeckt worden waren. Aus dieser Studie ging hervor, daß nur 18 % der symptomlosen Gallensteinträger im Lauf der Zeit Symptome in Form von Koliken, akuter Cholecystitis oder akuter Pankreatitis entwickelt hatten. Einschränkend muß jedoch angeführt werden, daß von den 123 untersuchten Personen 110 männlichen Geschlechts waren, 35 Personen sich zu einer prophylaktischen Cholezystektomie entschlossen hatten und die 42 verbliebenen asymptomatischen Gallensteinträger in höherem Alter durchaus noch Symptome entwickeln könnten. Diese Zahlen wurden im wesentlichen in einer Studie von McSherry et al bestätigt. Nur 10 % der asymptomatischen Gallensteinträger entwickelten die oben erwähnten Symptome, während 44 % der symptomatischen Gallensteinträger wegen persistierender Symptome cholezystektomiert werden mußten (83).

Aus all diesen Studien wird deutlich, daß Gallensteine in der Überwiegenden Anzahl der Patienten keine Symptome hervorrufen und daher keine generelle Operationsindikation bei Gallensteinträgern besteht. Auch das erhöhte Risiko der Gallensteinträger verglichen mit einer Population ohne Gallensteine an einem Gallenblasenkarzinom zu erkranken (94) erlaubt nicht, eine prophylaktische Cholecystektomie anzustreben, da die Häufigkeit der Gallenblasenkarzinome unter den Steinträgern mit circa 1 % wahrscheinlich nicht höher liegt als das generelle Letalitätsrisiko der Cholecystektomie (94).

Neuerdings wird auch - allerdings kontrovers - diskutiert, ob nach einer Cholecystektomie das Kolonkarzinomrisiko zunimmt (125).

Einem Steinträger, bei dem zufällig Gallensteine entdeckt wurden, wird demnach zunächst eine cholesterin- und kalorienarme sowie ballaststoffreiche Diät empfohlen, vor allem wenn er Übergewichtig ist. Sarles et al haben in einer retrospektiven Untersuchung festgestellt, daß Gallensteinträger signifikant mehr Kalorien einnehmen als Kontrollpersonen ohne Cholelithiasis (121). Darüberhinaus berichten einige Autoren, daß Weizenkleie den Sättigungsindex senkt und den Anteil an Chenodesoxycholsäure (CDC) steigert (110). Ob durch eine entsprechende Diät jedoch ein litholytischer Effekt auf bereits vorhandene Gallensteine erreicht werden kann, ist durch wissenschaftliche Studien nicht belegt.

Da nun die Operationsletalität mit zunehmendem Alter von 0,5 % unter 60 Jahren auf 7 % über 60 Jahren steigt und bei zusätzlichen Komplikationen wie Pankreatitis und Cholecystitis noch weiter zunimmt, sollte bei Symptomen zur Operation geraten werden.

ad 1.3.2 Cholecystektomie

In der BRD unterziehen sich jährlich etwa 1 - 2 % der Gallensteinträger einer Cholecystektomie. Die Dringlichkeit der Operation richtet sich dabei nach dem Schweregrad und der Häufigkeit der Symptome. Eindeutige Indikationen zur Cholecystektomie sind: Akute Cholecystitis mit und ohne Konkreme, biliär bedingte akute Pankreatitis, chronische Cholecystitis mit Porzellangallenblase und rezidivierende Koliken mit und ohne obstruktivem Ikterus. Seit 1972 (27) besteht zur operativen Behandlung eine Alternative in der medikamentösen Litholyse der Gallensteine. Für diese Behandlung kommen vor allem Personen in Betracht, die symptomatisch sind, bei denen jedoch keine absolute Dringlichkeit zur Cholecystektomie besteht. Darüberhinaus können Gallensteinranke mit Kontraindikationen zur chirurgischen Therapie Nutzen aus dieser neuen Behandlungsmöglichkeit ziehen.

ad 1.3.3 Medikamentöse Therapie

Seit über 50 Jahren wird versucht, ein Medikament zur Gallensteintherapie zu entwickeln. Bereits 1937 berichteten Rewbridge et al (110) über den erfolgreichen Einsatz eines Gallensäurengemisches bei 3 von 5 Patienten. Auch 1957 wurden bei 7 von 9 Patienten Gallensteine durch gemischte Gallensäuren therapiert (25). Doch diese Therapie konnte sich nicht durchsetzen. Seit der wirkungsvollen Anwendung von CDC durch Danzinger et al (27) bei cholesterinhaltigen Gallensteinen berichteten zahlreiche Studien über den erfolgreichen Einsatz dieser Gallensäure zur oralen Therapie von Gallensteinen.

Bei der oralen Gabe von CDC steigt ihr relativer Anteil von ursprünglich 35 % auf bis zu 95 % an (1, 61, 100). Ab einem Prozentanteil von 70 % wird dabei der Sättigungsindex der Galle so weit gesenkt, daß zusätzliches Cholesterin in Lösung gehen kann (120). Als Ursachen für diese Erscheinung werden eine verminderte Cholesterinsynthese durch Hemmung der HMGCoA-Reduktase (27), eine verminderte Cholesterinsekretion aus der Leber (47, 64), eine Verminderung der intestinalen Cholesterinresorption (1, 106) durch Verkürzung der Transitzeit und eine Verbesserung der mizellaren Löslichkeit diskutiert (116). Durch die Herabsetzung des Sättigungsindex vermag zusätzliches Cholesterin aus dem Stein in Lösung gebracht und der Stein dadurch verkleinert werden.

Trotz zahlreicher Studien zur medikamentösen Gallensteintherapie bleiben die Ergebnisse relativ enttäuschend. In der größten bisher durchgeführten Studie der National Cooperative Gallstone Study (NCGS) (116) wurden 916 Patienten in drei randomisierten Gruppen über zwei Jahre mit 750 mg/dl CDC, 375 mg/dl CDC oder Placebo behandelt. Dabei kam es in der Gruppe mit der höchsten Dosierung in 13,5 % zur kompletten und in weiteren 27,3 % zur partiellen Auflösung. Als Kritik muß hier jedoch angeführt werden, daß die Dosierung mit 10,6 mg/kg/d für Frauen und 9,0 mg/kg/d für Männer wahrscheinlich zu niedrig war. Weltweit wird eine komplette Auflösung in etwa 25 % und eine teilweise Auflösung in etwa 30 % berichtet (33).

In Deutschland werden Erfolgsquoten zwischen 60 und 70 % angegeben (71). Entscheidend für die Erfolgsquote sind im wesentlichen vier Faktoren.

1. Die Gallenblasenfunktion
2. Der Steintyp

3. Der Grad der biliären Cholesterinuntersättigung

4. Die Steingröße

1.3.3.1 Die Bedeutung der Gallenblasenfunktion

Damit die Gallensäure ihre volle Wirkung entfalten kann, muß sie die Gallensteine erreichen. Dies ist jedoch nur möglich, wenn sie in die Gallenblase gelangt. Aus diesem Grund ist eine funktionstüchtige Gallenblase eine wichtige Voraussetzung. Bleibt sie bei der oralen Cholecystographie "stumm", muß man davon ausgehen, daß auch die litholytischen Gallensäuren die Gallensteine nicht erreichen. Deshalb sieht man von einer medikamentösen Therapie ab, wenn sich die Gallenblase nach zwei aufeinanderfolgenden oralen Cholecystographien innerhalb eines Monats nicht darstellt.

1.3.3.2 Die Bedeutung des Steintyps

Nur cholesterinreiche Steine sind einer medikamentösen Litholyse zugänglich. In Ländern westlicher Zivilisation haben etwa 75 % aller Steinträger einen Cholesteringehalt von über 80 %. Cholesterinreiche Steine sind im Röntgenbild nicht schattengebend, so daß nur röntgennegative Steine einer Therapie zugeführt werden sollten (11). Allerdings ist dabei zu beachten, daß 10 - 15 % der röntgennegativen Steine sogenannte Pigmentsteine darstellen, bei denen eine Lysetherapie erfolglos bleibt (11). Dolgrin et al haben Charakteristika herausgearbeitet, die bei röntgennegativen Steinen für das Vorliegen von cholesterinreichen Steinen sprechen. Demnach sind radiologisch nachgewiesene in der Galle schwimmende Steine mit einem Durchmesser über

6 mm und einer Anzahl von über 10 signifikant häufiger cholesterinreiche Steine als Pigmentsteine, während Steine mit zentraler Kalzifikation häufiger Pigmentsteine darstellen (28).

1.3.3.3 Die Bedeutung der biliären Cholesterinuntersättigung

Bei der oralen Gabe von CDC steigt ihr relativer Anteil von ursprünglich 35 % auf 95 % an (1, 61). Thistle et al (120) beschrieben, daß erst ab einem relativen Anteil der CDC von 70 % der Sättigungsindex hinreichend gesenkt wird. Erst ab einer Dosierung zwischen 10 - 15 mg/dl/d CDC wird dieser Anteil erreicht. Eine höhere Dosis bringt keinen zusätzlichen Effekt auf den Sättigungsgrad. Da während der nächtlichen Fastenzeit der Sättigungsindex regelmäßig wieder ansteigt (95, 96), wird die Gabe der CDC kurz vor dem Schlafengehen favorisiert. Maudgal et al berichtete (81, 80), daß eine abendliche Dosierung, sowie eine zusätzliche cholesterinarme Diät den Effekt der CDC verbessern.

1.3.3.4 Die Bedeutung der Steingröße

Iser et al (60) zeigten, daß sich bei entsprechend selektierten Patienten nach 12 Monaten 75 % der Steine kleiner als 10 mm komplett aufgelöst hatten, während nur 50 % der Steine zwischen 10 und 20 mm und keiner mit größerem Durchmesser als 20 mm vollständig in Lösung gegangen war. Auch Northfield et al stellten fest, daß zwischen der Auflösungsrate und dem Steindurchmesser eine negative Korrelation besteht. Dabei hatten nach 6 Monaten Therapie 20 mm

große Steine im Schnitt 20 % ihres Ausgangsdurchmessers, 10 mm große Steine im gleichen Zeitraum bereits 55 % und 2 mm große Steine sogar schon 80 % verloren (97).

In der größten diesbezüglichen Studie der NCGS zeigt sich ebenfalls, daß Patienten mit großen Gallensteinen weniger erfolgreich behandelt wurden. Hier wird ein Volumen von $2,65 \text{ cm}^3$ als kritische Größe angegeben, ab der Steine geringfügiger auf die Litholyse antworten (116). Dies entspricht einem Steindurchmesser von 17 mm (116). Für die komplette Auflösung von Gallensteinen ermittelten Erlinger et al in einer randomisierten Doppelblindstudie einen signifikanten Unterschied bei einer Steingröße von 5 mm. Steine, die kleiner waren lösten sich zu 40 % komplett auf, während dies nicht ganz 15 % der Steine zwischen 5 und 15 mm taten (33).

Hofman et al wiesen auf die Bedeutung des Verhältnisses Oberfläche : Volumen, sowie auf die Oberflächenbeschaffenheit des Steines für dessen Auflösung hin (53). Wolpers zeigte in diesem Zusammenhang, daß große Steine häufiger mit einer dichten äußeren Schicht umpackt sind und dadurch einer Auflösung in untersättigter Galle weniger zugänglich sind (131).

Von diesen vier Faktoren hängt die Erfolgsquote der medikamentösen Litholyse ab. Je strenger die Selektionskriterien gestellt werden, desto geringer ist die Anzahl der Gallensteinträger, die für eine Gallensteintherapie geeignet sind. In der Literatur werden Prozentsätze zwischen 3 und 75 % angegeben (41, 115, 127).

Die Therapie der Gallensteine ist bei 50 % der Patienten zu Beginn nicht nebenwirkungsfrei (116). Es wurden ein leichter Transaminasenanstieg, ein geringer Anstieg der LDL-Fraktion des Serumcholesterins und eine mäßige Diarrhöe beschrieben (116). Allerdings geht die Anzahl der Pa-

tienten, die unter Nebenwirkungen leiden, im Laufe der ersten Tage und Wochen zurück, so daß die Therapie bei weniger als 5 % auf Grund einer persistierenden Diarrhoe aufgegeben werden muß (79).

Nach Abschluß einer erfolgreichen Therapie muß allerdings bei jedem zweiten Patienten mit einem Rezidiv gerechnet werden (111). Inwieweit hier eine lebenslange Rezidivprophylaxe Erfolg bringt bedarf weiterer Untersuchungen.

CDC stellt nicht die einzige Möglichkeit einer chemischen Litholyse dar. Kurz nach den Berichten erfolgreicher Anwendung von CDC beschrieben japanische Wissenschaftler die erste Auflösung von Gallensteinen mit Hilfe von UDC (91). In der Folge zeigte sich, daß in vivo UDC genauso wirkungsvoll ist, wie CDC (4), obwohl in vitro Untersuchungen ergaben, daß für UDC die Kapazität, Cholesterin in einer mizellaren Lösung zu halten sehr viel geringer ist als für CDC (19). Als Erklärung könnten hierfür zwei Phänomene dienen. Erstens hemmt UDC die biliäre Cholesterinsekretion stärker (etwa zu 50 %) als CDC (etwa zu 25 - 30 %) (32, 119). Dadurch liegt der Sättigungsindex um circa 15 % niedriger als nach einer vergleichbaren CDC-Gabe. Zweitens kann Cholesterin nicht nur in Mizellen gelöst vorliegen, sondern auch in Form sog. liquid crystals (26, 57, 113). Wie im Kapitel 1.2.4 erwähnt, bilden sie möglicherweise eine Vorstufe für solide Cholesterinkristalle. Umgekehrt könnten sie dann eine Zwischenstufe beim Übergang solider Kristalle in gelöstes Cholesterin darstellen.

Da jedoch Nebenwirkungen bei UDC-Therapie wesentlich seltener auftreten als während einer CDC-Gabe (4), wird heutzutage vorwiegend mit UDC anstelle von CDC behandelt. Als einzige Nebenwirkung zeigte sich eine leichte vorübergehende Diarrhoe, die aber bei weniger Personen auftrat als unter der CDC-Behandlung.

Allerdings führte die alleinige Gabe von UDC in 5 - 10 % der Fälle zu Kalzifikationen (10, 85) der Gallensteine. Aus diesem Grund empfehlen einige Wissenschaftler eine Kombinationstherapie, um einerseits die dosisabhängigen Nebenwirkungen der CDC zu senken, andererseits die Verkalkungen der Steine bei alleiniger UDC-Therapie zu vermeiden (103). Weiterhin besitzen beide GS einen differenten Ansatz bei der Reduktion der Cholesterinsekretion in die Galle. Ob langfristig diese Kombinationstherapie den anderen Therapieschemata überlegen ist, wird die Zukunft zeigen.

Die Behandlung mit Gallensäuren führt jedoch auch zu positiven Begleiterscheinungen. So wird unter CDC und UDC-Therapie eine Abnahme der Häufigkeit und Stärke von Oberbauchkoliken beschrieben (85). Forgacs und Dowling erklären diese Erscheinung mit ihrer Beobachtung, daß unter CDC und UDC-Therapie die Gallenblasenmotilität bei Patienten mit Gallensteinen geringer ist, und die Gallenblasenkontraktion nach CCK-Gabe weniger komplett abläuft (103).

Von den vier wesentlichen Voraussetzungen für eine erfolgreiche medikamentöse Litholyse, nämlich geeignete Auswahl der Patienten nach Steintyp und Funktion der Gallenblase, Erreichen einer maximalen und dauerhaften Untersättigung durch einmalige Dosierung der Gallensäure vor dem Schlafengehen und einem möglichst geringen Steindurchmesser sind die ersten drei Voraussetzungen weitgehend ausgeschöpft.

Lediglich durch eine Zerkleinerung der Steine könnte die Erfolgsquote einer Lysetherapie verbessert werden. Für Nierensteine wurde bereits gezeigt, daß sie durch Anwendung extracorporal erzeugter Stoßwellen auf nicht invasivem Weg zerkleinert werden können (21). Welcher Mechanismus dabei wirkt, soll das folgende Kapitel zeigen.

1.4 Stoßwellenlithotripsie als Möglichkeit zur Zerkleinerung von Gallenblasensteinen?

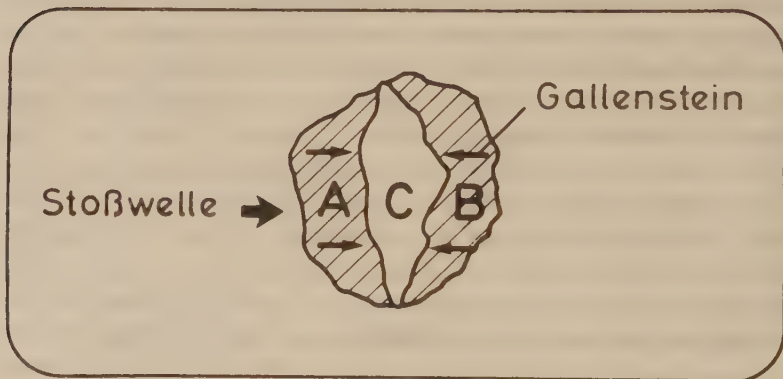
1.4.1 Physikalische Grundlagen

Übersteigt die Ausbreitungsgeschwindigkeit einer Druckwelle die Schallgeschwindigkeit im betreffenden Medium, so entstehen hochenergetische Stoßwellen. Dabei kann sich ein extrem rascher Druckimpuls im μ -Sekundenbereich aufbauen. Im Gegensatz zur Ultraschallwelle ist die Stoßwelle durch ihren steilen Anstieg und relativ langsamen Abfall gekennzeichnet (35). Künstlich kann sie durch eine Unterwasserfunkenentladung erzeugt werden (5). Dazu wird ein Kondensator mit einer variierbaren Spannung von einigen Kilowatt aufgeladen und mit einer Schaltfunkenstrecke über eine Unterwasserfunkenstrecke entladen (36). Die Entladung geschieht bei kleinem Abstand der Elektroden durch einen dielektrischen Durchschlag (37). Der plötzliche Temperaturanstieg bewirkt eine blitzartige Verdampfung des Wassers im unmittelbaren Bereich des Funkenschlages und führt zur Bildung einer sich radial ausbreitenden Stoßwelle. Da nun jede Welle den Gesetzen der Akustik gehorcht, wird auch diese Wellenfront an Grenzflächen reflektiert, an denen sich die Schallimpedanz unstetig ändert. Dies wird bei der Zertrümmerung von Konkrementen durch Stoßwellen ausgenutzt. Die dafür benötigten hohen Druckamplituden können nur durch eine Fokussierung der Stoßwellen erreicht werden. Gleichzeitig wird durch die Fokussierung der Stoßwelle in das zu zertrümmernde Konkrement die Gewebsbelastung der Umgebung gering gehalten. Die Bündelung der Stoßwellen erfolgt dadurch, daß die Stoßwelle zunächst in einem Brennpunkt F_1 eines Halbellipsoids erzeugt wird. Die Stoßwelle breitet sich nun kugelförmig aus, bis die Ellipsoidwand er-

reicht ist. Den Huygenschen Gesetzen folgend wird jeder Punkt entlang der Ellipsoidwand Ausgangspunkt einer neuen Kugelwelle. Auf Grund der geometrischen Eigenschaften einer Ellipse werden alle neu entstandenen Stoßwellenfronten im zweiten Brennpunkt F_2 gebündelt. Die Stoßwelle erreicht somit dort ihre maximale Energiedichte. In diesem zweiten Brennpunkt befindet sich das Konkrement. Übersteigt nun die an ein dort befindliches Konkrement übertragene Energie dessen Druck- und Zugfestigkeit um ein Vielfaches, so kommt es zu einer mechanischen Zerkleinerung.

Der Abplatzeffekt beruht auf der physikalischen Gesetzmäßigkeit, daß Wellen an Grenzflächen zum Teil unter Phasenumkehr reflektiert werden (48), zum Teil in das Konkrement eindringen. Der Zertrümmerungsvorgang kann an einem Modell gut erklärt werden (s. Abb. 1).

Abb. 1:



Überschreitet die beim Auftreffen der Stoßwelle entstehende Druckbelastung die Druckfestigkeit des Konkrementes, entstehen zunächst Risse und anschließend platzen Teile in der Zone A ab. Die eingedrungene Welle wird an der nächsten Grenzfläche Konkrement/Körpergewebe, also am Austrittsort der Welle, unter Phasenumkehr als Zugwelle reflektiert. Auch hier wird bei Überschreiten der tolerablen Zugbeanspruchung die Zone B zerstört. Die unbeeinflusste Zone C wird dann zum Ziel einer erneuten Stoßwellenexposition. Dabei hängt die Tiefe der zerstörten Zone und der Grad der Zerstörung von der Höhe der Druckamplitude und der Impulslänge ab (23). Bei der Erzeugung der Stoßwelle an der Luft würde ein Großteil der Welle an der Oberfläche des menschlichen Körpers reflektieren und dabei viel Energie verloren gehen. Zwischen Wasser und Körpergewebe besteht kein wirksamer Unterschied der Impedanz, so daß es sinnvoll ist, die Welle im Wasser zu erzeugen und den zu behandelnden Patienten ins Wasser zu legen (44). Dadurch kommt es kaum zu störenden Reflexionen oder Dämpfungen an der Grenze Wasser-Körpergewebe. Untersuchungen haben ergeben, daß bei einem Durchlauf von 6 cm Muskelgewebe mit einem Amplitudenabfall von 10 - 20 % zu rechnen ist (23). Die für eine Zertrümmerung in biologischem Gewebe notwendigen Voraussetzungen seien noch einmal zusammengefaßt:

- 1) Die Schallimpedanz des Mediums, in dem die Stoßwellen erzeugt werden, muß dieselbe sein, wie die biologischen Gewebes, um Reflexionen an der Körperoberfläche zu vermeiden und die damit verbundene Beanspruchung abzumildern.
- 2) Die Amplitude der Druckwelle muß höher sein als es der Druck- und Zugfestigkeit des Steinmaterials entspricht.
- 3) Die Druckamplitude muß niedriger sein als es der Druck- und Zugfestigkeit des biologischen Gewebes entspricht.

- 4) Die Stoßwelle muß fokussiert werden, um eine maximale Druckamplitude innerhalb des Steines bei gleichzeitig geringer Druckbelastung außerhalb des Steines zu erreichen.
- 5) Die Impulslänge der Stoßwelle muß kleiner sein als die Laufzeit der Welle durch das Konkrement. Dadurch wird eine Überlagerung der einlaufenden Welle mit der reflektierten Welle weitgehend vermieden. Um die Impulslänge möglichst gering zu halten, muß das Konkrement möglichst exakt im zweiten Brennpunkt liegen.

1.4.2 Verträglichkeit der Stoßwellen am biologischen Gewebe

Die extracorporale Stoßwellenlithotripsie (ESWL) wird derzeit an vielen Kliniken bereits routinemäßig bei Nieren- und Uretersteinen angewandt (21, 22, 90). Die Erfolgsquote der anschließend steinfreien Patienten liegt bei 90 % (22). Vorversuche haben gezeigt, daß die den Stoßwellen ausgesetzten Organe und Gewebeanteile zum Teil keine, zum Teil nur geringgradige und in kurzer Zeit reversible Schäden davontrugen. So ergab sich bei mehrfacher Exposition von Vollblut eine mit der Anzahl der Expositionen linear zunehmende freie Hämoglobinkonzentration (23). Da jedoch die von der Stoßwelle getroffene Blutmenge im Verhältnis zur Gesamtblutmenge äußerst gering ist, wirkt sich die Hämolyse systemisch kaum aus.

Die Lymphocyten hielten dem Stoßwellenbeschuß besser stand. Für sie wurde weder eine Veränderung der Anzahl noch eine Veränderung in der Stimulationsfähigkeit nach Stoßwellenapplikation festgestellt (23).

Bei der ungezielten Exposition des Abdominalraumes zeigten sich bei Leber, Dickdarm und Dünndarm, Niere und Wirbelsäule keine mikroskopisch oder makroskopisch sichtbaren Veränderungen (23).

Bei der gezielten Applikation der Stoßwellen auf Leber und Dickdarm fanden sich nach 24 h kleine petechiale Blutungen, die sich nach 14 Tagen vollständig zurückgebildet hatten (23). Die gezielte Beschallung von Rippe, Sternum und Wirbelkörper ergaben makroskopisch keine sichtbaren Schäden. Mikroskopisch lag eine Rarefizierung der Knochenbälkchen mit ödematöser Verquellung des Stroma vor.

Schwerwiegendere Schäden traten bei der Applikation der Stoßwellen auf die Lunge und die Röhrenknochen auf. In der Lunge führten Gefäß- und Alveolarzerreißen bei Ratten zu einer massiven Hämoptoe. Die Tiere verstarben innerhalb von Minuten in Asphyxie (23). Durch Schutz der Lunge mit Hilfe von Styropor wurden diese Schäden vermieden.

Die Exposition menschlicher Röhrenknochen führte bereits makroskopisch zu einer Spaltung.

Aus diesen Gründen müssen Röhrenknochen und Lunge bei der ESWL vor der Stoßwellenapplikation geschützt werden.

2. FRAGESTELLUNG

Die erfolgreichen Ergebnisse bei der Nierensteinlithotripsie (22, 90) warfen die Frage auf, ob dieses therapeutische Prinzip auch auf die Behandlung von Gallensteinen übertragen werden kann (15). Da nicht gesichert war, ob Fragmente, die nach der Stoßwellenapplikation von Gallenblasensteinen entstehen, spontan aus der Gallenblase abgehen, sollte hier ein Beitrag zum Konzept einer kombinierten Therapie aus Stoßwellenlithotripsie und medikamentöser Litholyse geleistet werden. Für die in dieser Arbeit durchgeführten in vitro Untersuchungen ergaben sich folgende Fragestellungen:

- 1) Kann durch Fragmentation eines Gallensteines mit Hilfe extracorporal erzeugter Stoßwellen eine Beschleunigung seiner Auflösung in einer Modellgalle erreicht werden?
- 2) Spielt die Fragmentgröße für die Auflösungsgeschwindigkeit eine Rolle?
- 3) Unterscheidet sich das Auflösungsverhalten eines unversehrten Steines von dem eines gleich großen und gleich schweren Fragmentes mit gleichem Cholesteringehalt?
- 4) Wie verhält sich ein fragmentierter cholesterinarmer Stein nach Zerkleinerung durch Stoßwellen im Vergleich zu einem cholesterinreichen Stein?
- 5) Welchen Einfluß hat eine Veränderung der Gallensäurezusammensetzung der Modellgalle auf den Auflösungsprozeß?

3. MATERIAL UND METHODIK

3.1 Auswahl der Gallenblasensteine

Die Gallenblasensteine wurden aus Sektionen gewonnen und sofort in physiologische Kochsalzlösung gelegt. Für vergleichende Versuche wurden jeweils nur in Größe und Gewicht einander entsprechende Gallensteine aus derselben Gallenblase verwendet. Die Gallensteine für die Versuche 1 - 3a und 5 stammen aus der Gallenblase einer mit 78 Jahren verstorbenen Frau. Sie hatte 83 Gallensteine, von denen die meisten zwischen 250 mg und 300 mg wogen (80 mg minimal - 450 mg maximal). Für Versuch 3b wurden Steine eines 65jährig verstorbenen Mannes mit über 100 kleinen Gallensteinen zwischen 15 mg und 80 mg ausgewählt. Für Versuch 4 wurde ein Gallenstein mit niedrigem Cholesteringehalt ausgesucht, um seine Auflösungsgeschwindigkeit mit der eines Steines mit hohem Cholesteringehalt zu vergleichen. Er stammte aus der Gallenblase einer 63jährigen.

3.1.1 Bestimmung des Cholesteringehaltes der Gallenblasensteine

Vor den Versuchen wurde der Cholesteringehalt mehrerer Steine aus derselben Gallenblase bestimmt. Es wurde davon ausgegangen, daß ihr Cholesteringehalt dem der Versuchssteine entspricht. Die Cholesterinbestimmung erfolgte nach Smallwood et al (118). Von den 83 Steinen aus Versuch 1 - 3a und 5 wurden 4 zur Bestimmung des Cholesteringehaltes aussortiert. Es ergab sich ein durchschnittlicher Cholesteringehalt von 86 % (84 %, 86 %, 86 %, 87 %). Für die Steine aus Versuch 3b wurden 81 % ermittelt. Für den 4. Ver-

such wurde ein Stein mit 45 % Cholesterin ausgewählt.

3.1.2 Elektronenmikroskopische Untersuchung der zerkleinerten Gallensteine

Bei der elektronenmikroskopischen Betrachtung der Gallensteine wurden 2 verschiedengradig fragmentierte Steine mit einem unversehrten Stein verglichen. Zu diesem Zweck wurden ein Fragment, ein unversehrter Stein und ein Stein, der nach Beschuß mit 5 Stoßwellen noch nicht zerfallen war, unmittelbar nach Stoßwellenexposition zur Vermeidung von Trocknungsartefakten für 24 h in OsO_4 fixiert und anschließend für die elektronenoptische Darstellung unter Vakuum mit Gold beschichtet (14).

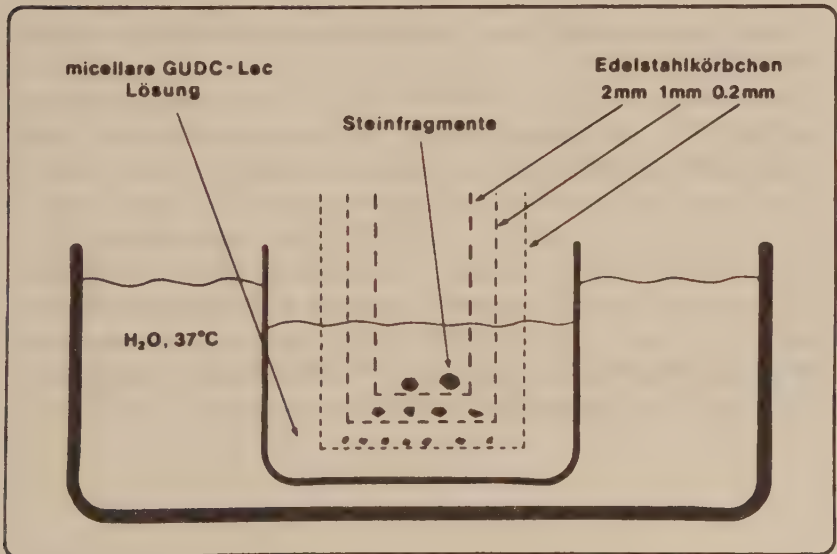
3.1.3 Zerkleinerung der Steine

Die Gallensteine wurden in einem Lithotriptermodell der Firma Dornier im Institut für Chirurgische Forschung des Klinikums Großhadern mit einer Energie von 20 kV und einem Druck von 1000 bar den Stoßwellen ausgesetzt. Zur Stoßwellenexposition wurden sie in Fingerlinge gelegt und wasserdicht verschlossen. Je nach Versuchsanordnung wurden sie entweder mit 5 ml des Lösungsmediums Versuch 1 und 4) oder mit 5 ml Kochsalzlösung (Versuch 2, 3 und 5) gefüllt. Unmittelbar nach der Zertrümmerung wurden in 1 und 4 die Fragmente sofort 45 ml der gemischten Gallensalz-Lecithin-öLsung zusammen mit den 5 ml Lösungsmedium aus dem Fingerling zugeführt. In Versuch 2, 3 und 5 wurden sie vorher der Größe nach geordnet und dann in 50 ml des Lösungsmediums inkubiert.

3.2 Versuchsaufbau und Versuchsdurchführung

Die zertrümmerten und nicht zertrümmerten Steine wurden in drei ineinandersteckbare rostfreie Edelstahlkörbchen mit verschiedener Maschenweite gelegt (außen 0,2 mm, Mitte 1 mm, innen 2 mm), so daß sämtliche Fragmente, die größer waren als 2 mm im innersten Körbchen hängenblieben, während alle Fragmente, die kleiner waren, durchfielen. Waren unter diesen Fragmenten Teile größer als 1 mm, so blieben sie im mittleren Körbchen liegen. Der Rest fiel weiter durch und blieb im äußersten Körbchen hängen. In diesem System wurden die Steine und Fragmente in 50 ml einer mizellaren Gallensäure-Lecithin-Lösung eingetaucht. Die Temperatur wurde bei 37° C in einem Schüttelwasserbad konstant gehalten (s. Abb. 2). In bestimmten vorher definierten Ab-

Abb. 2:



ständen (0,5 - 1 Tagesintervall) wurden kleine gut gemischte Proben (100 μ l) der Gallensäure-Lecithin-Lösung entnommen, um den Anstieg des gelösten Cholesterins in Abhängigkeit von der Inkubationszeit festzustellen. Zusätzlich wurde die Gewichtsabnahme der noch im Körbchen befindlichen Steine und Fragmente im Abstand von 4 Tagen mit Hilfe einer Mikrofeinwaage registriert. Während der Experimente 1 - 4 wurde die Lösung nicht gewechselt.

3.2.1 Herstellen einer Modellgalle als Lösungsmedium

Die Lösung wurde nach Salvioli et al hergestellt (112). Hierzu wurde eine Mischung, bestehend aus GUDC und Lecithin, in einem molaren Verhältnis von 4 : 1 in einem Methanol-Wasser Gemisch (95 : 5 vol/vol) gelöst. Diese Lipidlösung wurde in Vakuum unter Stickstoff und über Phosphorpenoxid getrocknet. Die getrockneten Lipide wurden in einem KCl/ NaOH Puffer bis zu einer endgültigen Konzentration von 100 mmol/l GUDC und 25 mmol/l Lecithin gelöst. Dieses Verhältnis entspricht in etwa dem Verhältnis in natürlicher Galle (2, 89). Zusätzlich zu dieser Lösung wurden 0,15 M NaCl, 0,2 mg/ml NaN_3 zur Desinfizierung und 0,05 mg/ml Butylhydroxytoluen (BHT) als Antioxidans hinzugefügt. Der endgültige pH lag zwischen 8 und 9.

Für Versuch 5 diente eine mizellare Glycochenodesoxycholsäure (GCDC)-GUDC-Lecithin-Lösung im molaren Verhältnis von 6 : 4 : 2,5 als Lösungsmedium. Der Anteil an GUDC entspricht mit 40 % der Gesamtgallensäuren in etwa dem Prozentsatz, der bei litholytischer Behandlung mit Ursodesoxycholsäure (UDC) in der Galle erreicht wird.

3.2.2 Bestimmung des Cholesterins in der Lösung

Die Bestimmung des Cholesterinanstiegs in der Lösung erfolgte photometrisch mit Hilfe der Cholesterinoxidase-PAP-Methode nach Fromm et al (38).

Proben wurden an den ersten beiden Tagen in 12 h Abständen entnommen, später alle 24 h. Die Proben wurden bei -20° C eingefroren und einer späteren Bestimmung zugeführt.

3.2.3 Bestimmung des Gewichtsverlustes der Steine

Alle 4 Tage wurden die Steine oder Steinfragmente dem Lösungsmedium entnommen, 15 min. an der Luft getrocknet, und ihr Gewicht mit Hilfe einer Mikrofeinwaage festgestellt. Anschließend wurden die Steine wieder dem Auflösungsvorgang ausgesetzt.

3.2.4 Polarisationsmikroskopische Untersuchung der Lösung

Zur Überprüfung der von Salvioli, Carey et al (113) beschriebenen Lösungsformen des Cholesterins in "urosreicher" Galle, nämlich gemischter Mizellen und sogenannter Flüssigkristalle (liquid crystals), wurde die Lösung über 2 h bei 50.000 g und 37° C zentrifugiert. Der Cholesteringehalt der dabei entstandenen oberen und mittleren Schicht wurde bestimmt und alle drei Schichten durch ein Polarisationsmikroskop untersucht. Zu diesem Zweck wurde je eine Probe mit Hilfe einer auf 37° C vorgewärmten Pipette auf einen 37° C warmen Objektträger aufgetragen und fotografiert.

3.2.5 Versuchsdurchführung

Für die Untersuchung der 5 Fragestellungen wurden verschiedene Versuchsanordnungen gewählt.

3.2.5.1 Frage 1: Wie unterscheiden sich die Cholesterinauflösungsgeschwindigkeiten von unversehrten und verschiedengradig fragmentierten Gallenblasensteinen in einer mizellaren GUDC-Lecithin-Lösung?

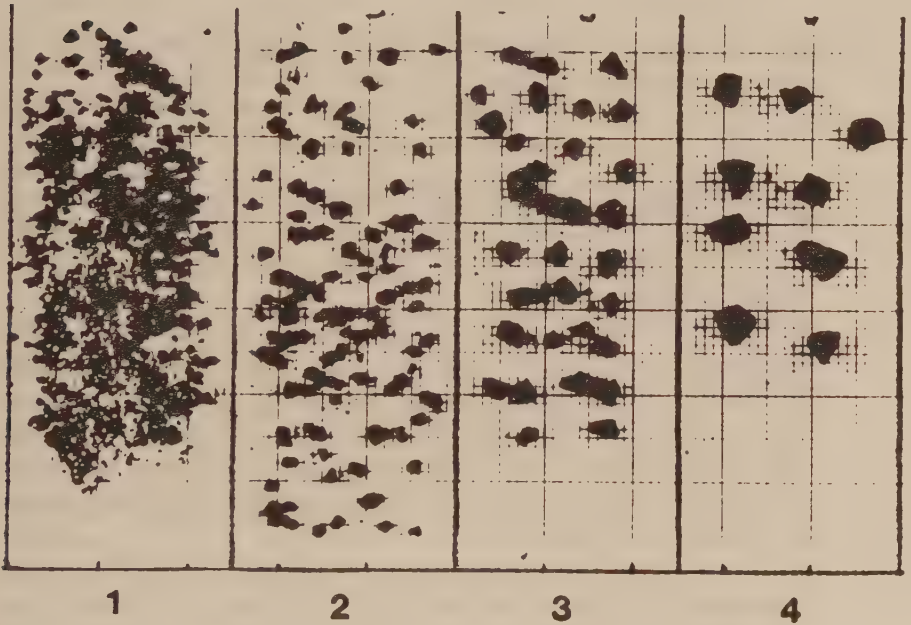
Zur Klärung dieser Frage wurden 6 Steine aus derselben Gallenblase mit vergleichbarem Gewicht und vergleichbarer Größe ausgewählt (263 mg - 283 mg). Die Bestimmung des Cholesteringehaltes vier anderer Steine aus derselben Gallenblase ergab einen Wert von durchschnittlich 86 %. Zwei der sechs Steine wurden unversehrt belassen, zwei der Steine wurden bis zu ihrem beginnenden Zerfall den Stoßwellen ausgesetzt. Hierfür waren jeweils vier Stoßwellenentladungen notwendig. Zwei wurden mit 200 bzw. 300 Schuß solange beschossen, bis eine weitere Zerkleinerung nicht mehr möglich erschien. Diese sechs Steine wurden in insgesamt jeweils 50 ml der mizellaren GUDC-Lecithin-Lösung inkubiert. Der Anstieg des gelösten Cholesterins und der Gewichtsverlust wurden in der in 2.2.2 und 2.2.3 beschriebenen Weise durchgeführt.

3.2.5.2 Frage 2: Ab welcher Fragmentgröße kann mit einer raschen Auflösung gerechnet werden?

Hierfür wurden mehrere Steine mit Schußzahlen zwischen 50 und 300 beschossen und die dabei entstandenen Fragmente mit Sieben verschiedener Maschenweite aussortiert. Dadurch entstanden vier (Versuch 2a) bzw. fünf (Versuch 2b) Proben

(s. Tab. 1) mit jeweils gleichem Gesamtgewicht aber verschiedener Fragmentgröße (s. Photo 1). Die Gewichtsabnahme der Fragmente und der Anstieg des Cholesterins in der Lösung wurden wie oben bestimmt.

Photo 1:



Fragmentproben

1 = Fragmente zwischen 0-1 mm, 2 = 1-2 mm, 3 = 2-3 mm,
4 = 3-4 mm

Größe und Gewicht der beiden Versuchsreihen aus Versuch 2:

Fragmentgröße		Gesamtgewicht	
Versuch 2a	Versuch 2b	Versuch 2a	Versuch 2b
a) 0-1 mm	0-1 mm	182,1 mg	182,3 mg
b) 1-2 mm	1-2 mm	181,8 mg	181,9 mg
c) 2-3 mm	2-3 mm	182,4 mg	182,1 mg
d) 3-4 mm	3-4 mm	182,2 mg	182,8 mg
e) -	4-5 mm	-	183,4 mg

3.2.5.3 Frage 3: Wie ist das Auflösungsverhalten verschieden großer Cholesterinsteinfragmente nach Stoßwellenbeschuß im Vergleich zu gleich großen unversehrten Cholesteringallenblasensteinen?

Nach Zertrümmerung mehrerer Steine mit 30 Stoßwellen wurde ein Fragment mit einem Gewicht von 122,8 mg und einem Durchmesser von 6,5 - 8 mm in die GUDC-Lecithin-Lösung gelegt und die Auflösungsgeschwindigkeit im Vergleich zu einem unversehrten Gallenstein gleichen Gewichtes und gleicher Größe aus derselben Gallenblase gemessen. Der Cholesteringehalt betrug 86 % (s. 2.1.1).

Es wurde ein weiterer Versuch mit zwei 2 - 2,5 mm großen Fragmenten und einem Gewicht von 19,4 bzw. 22,8 mg bei einem Cholesteringehalt von jeweils 81 % durchgeführt. Als Kontrolle dienten zwei gleich große, gleich schwere (20,6 bzw. 21,9 mg) Steine aus derselben Gallenblase.

3.2.5.4 Frage 4: Wie verhält sich die Auflösungsgeschwindigkeit eines cholesterinarmen Steines nach Stoßwellenzer-

trümmerung im Vergleich zu einem cholesterinreichen Stein? Zur Beantwortung dieser Frage wurde ein 269,4 mg schwerer Stein mit einem Cholesteringehalt von 45 % mit 300 Stoßwellen fragmentiert und dem Lösungsmedium ausgesetzt. Als Vergleich diente Stein sechs aus Versuch 1. Dieser hatte ein Ausgangsgewicht von 283,4 mg und einen Cholesteringehalt von 86 %.

3.2.5.5 Frage 5: Wie ist das Auflösungsverhalten in einer gemischten Gallensalz-Lecithin-Lösung bestehend aus GUDC, GCDC und Lecithin im molaren Verhältnis von 4 : 6 : 2,5 im Vergleich zu einer reinen GUDC-Lecithin-Lösung?

Zu diesem Zweck wurden wie in Versuch 2 Fragmente mit einem Durchmesser zwischen 1 mm und 2 mm ausgesiebt. Das Gesamtgewicht dieser Fragmente betrug 181,9 mg. Diese Fragmente wurden in eine GUDC (40 mM)-GCDC (60 mM)-Lecithin (25 mM)-Lösung inkubiert. Die Auflösungsgeschwindigkeit dieser 1 - 2 mm großen Fragmente wurde mit der Auflösungsgeschwindigkeit der 1 - 2 mm großen Fragmente aus Versuch 2 verglichen. Sobald über einen Zeitraum von 3 Tagen keine Zunahme des gelösten Cholesterins zu verzeichnen war, wurden die verbliebenen Fragmente in 50 ml frischer GUDC-GCDC-Lecithin-Lösung gelegt und der weitere Auflösungsprozeß beobachtet.

4. ERGEBNISSE

4.1 Ergebnis der Steinauflösung

4.1.1 Ergebnis zu Frage 1: Wie unterscheiden sich die Cholesterinlösungsgeschwindigkeiten von unversehrten und verschiedengradig fragmentierten Gallenblasensteinen in einer mizellaren GUDC-Lecithin-Lösung?

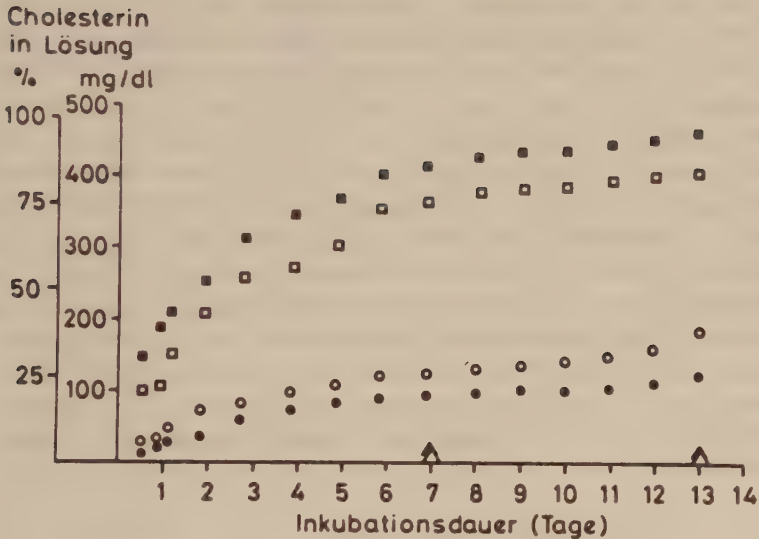
Der Vergleich der Auflösungsgeschwindigkeiten zeigte, daß die beiden unversehrten 263 mg und 264 mg schweren Steine während eines Beobachtungszeitraumes von 13 Tagen nur unwesentlich an Gewicht bzw. Cholesterin abgenommen haben (ca. 5 %, s. Abb. 3).

Im Vergleich dazu wurden vier in Gewicht und Größe einander entsprechende Steine mit verschiedener Stoßwellenzahl zertrümmert.

4.1.1.1 Der erste Stein (Ausgangsgewicht 269,5 mg) wurde mit 6 Schuß zertrümmert. Es entstanden 4 Fragmentteile mit einem Durchmesser von 3,5 mm - 5 mm. Bei diesem mit 6 Schuß fragmentierten Stein verkleinerten sich alle 4 Teile gleichmäßig, blieben aber bis zum 13. Tag größer als 2 mm. Den Gewichtsverlust kann man der Abbildung 4 entnehmen. Bis zum 4. Tag hatte der fragmentierte Stein 17 % seines Ausgangsgewichtes verloren, am 8. Tag 20 % und am 13. Tag 25 %.

4.1.1.2 Der zweite Stein wurde ebenfalls mit 6 Stoßwellen fragmentiert (Ausgangsgewicht 265,7 mg). Es entstanden wieder 4 Fragmente mit einem Durchmesser zwischen 3,5 mm und 5 mm. Ein Fragmentteil löste sich bis zum 13. Tag

Abb. 3: Cholesterinverlust nach unterschiedlicher Fragmentierung



▲ = ganzer Stein 263 mg, △ = ganzer Stein 264 mg,
● = Fragmente nach 6 Schuß, 269 mg Ausgangsgewicht
○ = Fragmente nach 6 Schuß, 265 mg, □ = Fragmente nach
200 Schuß, 281 mg ■ = Fragmente nach 300 Schuß, 283 mg,
Cholesteringehalt aller Steine 86 %, Lösungsmedium:
GUDC : Lec. 4 : 1

vollständig auf, während die anderen Trümmerteile analog zu 4.1.1.1 nur eine partielle Auflösung zeigten. Nach 4 Tagen hatte der Stein 20 % seines Ausgangsgewichtes verloren, nach 8 Tagen 27 %, nach 13 Tagen 37 % (s. Abb. 4).

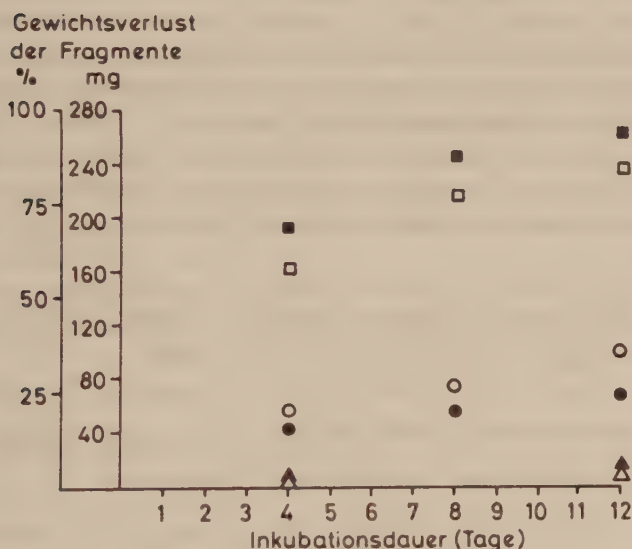
4.1.1.3 Der dritte Stein wurde mit 200 Stoßwellen fragmentiert (Ausgangsgewicht 281,3 mg). Es entstanden 10 Fragmentteile größer als 2 mm, 62 Fragmentteile zwischen 1 mm und 2 mm, sowie unzählige kleine Teile. Die Gewichtsveränderung ist aus Abbildung 4 zu entnehmen. Nach 4 Tagen hatte der Stein 58 % seines Gewichtes verloren. Zu diesem Zeitpunkt waren nur noch 3 Fragmente der ursprünglich vorhandenen 10 größer als 2 mm und nur noch 13 von 32 zwischen 1 mm und 2 mm groß. Der Rest lag zwischen 0,2 mm und 1 mm. Nach 8 Tagen waren 21 % des Cholesterins noch nicht in Lösung gegangen. 2 Fragmente waren noch größer als 2 mm. 2 Fragmentteile lagen zwischen 1 mm und 2 mm. 23 Fragmentteile mit einem Durchmesser zwischen 0,2 und 1 mm befanden sich im äußersten Körbchen. Nach 13 Tagen lagen noch 15 % des Cholesterins ungelöst vor. Die beiden Fragmente, die nach 8 Tagen noch größer als 2 mm waren, lagen immer noch im innersten Körbchen, ein Fragment im mittleren Körbchen. 16 Fragmentteile waren zwischen 0,2 mm und 1 mm groß.

4.1.1.4 Der vierte Stein wurde mit 300 Stoßwellen fragmentiert (Ausgangsgewicht 283,4 mg). Es entstanden 4 Fragmentteile größer als 2 mm, 62 Fragmentteile zwischen 1 mm und 2 mm, sowie unzählige kleinere Fragmente. Der Stein hatte nach 4 Tagen 68 % seines gesamten Cholesteringehaltes in die Lösung verloren. Nur noch ein Fragment war größer als 2 mm, 8 Fragmente waren größer als 1 mm aber kleiner als 2 mm. Nach 8 Tagen waren 88 % gelöst, wobei 1 Fragment immer noch größer als 2 mm, aber nur noch 2 Fragmente zwischen 1 mm und 2 mm groß waren. 14 Fragmente lagen im äußersten engmaschigen Körbchen (0,2 mm Maschenweite). Nach 13 Tagen lagen nur 9 Fragmente zwischen 0,2 und 1 mm vor,

die 5 % des Gesamtcholesterin enthielten.

In allen Fällen wurde die Gewichtsabnahme jeden 4. Tag bestimmt. Sie korrelierte mit der Zunahme des Cholesterins in der Lösung (s. Abb. 4).

Abb. 4: Gewichtsverlust nach unterschiedlicher Fragmentierung



△ = ganzer Stein, 263 mg, ▲ = ganzer Stein 264 mg,
 ● = Fragmente nach 6 Schuß, 269 mg Ausgangsgewicht,
 ○ = Fragmente nach 6 Schuß, 265 mg, □ = Fragmente nach 200
 Schuß, 281 mg, ■ = Fragmente nach 300 Schuß, 283 mg,
 Cholesteringehalt aller Steine 86 %, Lösungsmedium:
 GUDC : Lec. 4 : 1

4.1.2 Ergebnis zu Frage 2: Ab welcher Fragmentgröße kann mit einer raschen Auflösung gerechnet werden?

Zur Beantwortung dieser Frage wurden zwei Versuchsreihen durchgeführt. In Versuch 2a wurden vier Fragmentgruppen gebildet, in Versuch 2b wurde als fünfte zusätzliche Gruppe noch die Fragmentgröße 4 mm - 5 mm hinzugefügt. Wie aus den Abbildungen 5, 6 und 7, 8 zu entnehmen ist, sank die Auflösungsgeschwindigkeit bei Fragmenten größer als 2 mm deutlich ab. Diese Beobachtung spiegelt sich auch im Gewichtsverlust wieder (s. Abb. 6 und 8). 5 Tage nach Inkubationsbeginn war von den Fragmenten verschiedener Größe, jedoch gleichen Gesamtgewichtes (ca. 182 mg) folgender Cholesterinanteil in Lösung gegangen (s. Tab. 2).

Tab. 2: Cholesterin- und Gewichtsverlust der beiden Versuchsreihen aus Versuch 2 nach 5 Tagen

Fragment- größe	in Lösung gegangener Chole- steringehalt (nach 5 Tagen)		Gewichtsverlust (nach 5 Tagen)	
	2a	2b	2a	2b
0-1mm	283mg/dl=94%	285mg/dl=95%	166mg=92%	171mg=96%
1-2mm	261mg/dl=87%	244mg/dl=81%	148mg=82%	139mg=77%
2-3mm	177mg/dl=59%	171mg/dl=57%	94mg=52%	92mg=51%
3-4mm	198mg/dl=66%	147mg/dl=49%	110mg=61%	83mg=46%
4-5mm	-	60mg/dl=20%	-	32mg=18%

Auffällig in Versuch 2 a ist dabei, daß sich die Fragmente zwischen 3 und 4 mm schneller auflösten als die Fragmente zwischen 2 und 3 mm. Interessant in diesem Zusammenhang war, daß 2 Tage nach Beginn des Lösungsvorganges von den ursprünglich 10 Fragmenten 11 vorlagen. Nach 4 Tagen fand man bereits 14 Fragmente im Körbchen (s. farb. Abb. 1 A-

D). Einige Fragmente waren demnach während des Auflösungsprozesses zerfallen. Nach weiteren 2 Tagen hatten sich 5 der 14 Fragmente vollständig aufgelöst. Es handelte sich dabei um die kleineren Fragmentteile, die offensichtlich dem Auflösungsprozeß besonders zugänglich waren. Die Fragmente zwischen 2 und 3 mm waren nicht zerfallen. Der Unterschied in der Auflösungsgeschwindigkeit zwischen den Fragmentteilen kleiner als 2 mm und den Fragmentteilen größer als 2 mm zeigte sich besonders deutlich während der ersten 24 h (s. Tab. 3 und Tab. 4):

Aus der Tabelle 3 zu Versuch 2a kann man auch erkennen, daß sich die schnellere Auflösung der Fragmente zwischen 3 und 4 mm im Vergleich zu den Fragmenten zwischen 2 und 3 mm vor allem zwischen Tag 2 und Tag 5 vollzog, also nach dem weiteren Zerfall der Fragmente und innerhalb der Zeit, in der sich die kleineren Fragmentanteile vollständig auflösten.

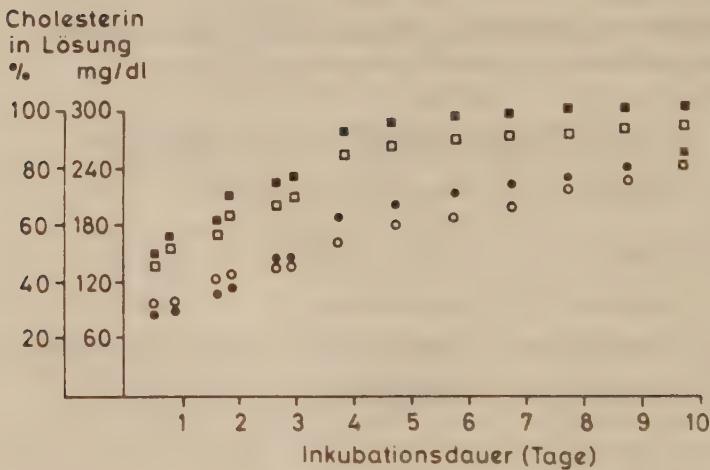
Tab. 3: Versuch 2a:Cholesterinverlust der 1. Versuchsreihe aus Versuch 2 zu verschiedenen Zeitpunkten

Fragment- größe	in Lösung gegangener Cholesterinanteil		komplette Auflösung
	an Tag 1	zwischen Tag 2 und 5	
0-1mm	174mg/dl=58%	109mg/dl=36%	Tag 8
1-2mm	159mg/dl=53%	102mg/dl=34%	Tag 11
2-3mm	102mg/dl=34%	75mg/dl=25%	keine bis Tag 11
3-4mm	90mg/dl=30%	108mg/dl=36%	"

Tab. 4: Versuch 2b: Cholesterinverlust der 2. Versuchsreihe
aus Versuch 2 zu verschiedenen Zeitpunkten

Fragment größe	in Lösung gegangener Cholesterinanteil		komplette Auflösung
	an Tag 1	zwischen Tag 2 und 5	
0-1mm	140mg/dl=47%	145mg/dl=48%	Tag 8
1-2mm	125mg/dl=42%	118mg/dl=39%	keine bis Tag 11
2-3mm	65mg/dl=22%	106mg/dl=35%	"
3-4mm	58mg/dl=19%	89mg/dl=30%	"
4-5mm	24mg/dl= 8%	36mg/dl=12%	"

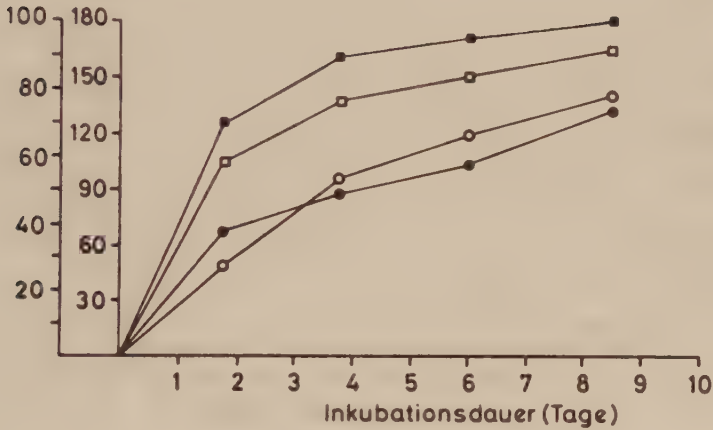
Abb. 5: Cholesterinverlust bei unterschiedlicher
Fragmentgröße



Fragmentgröße: □ = 0-1 mm (182,1 mg), ■ = 1-2 mm
(181,8 mg), ○ = 2-3 mm (1182,4 mg), ● = 3-4 mm (182,3 mg),
Cholesteringehalt 86 %, Lösungsmedium: GUDC : Lec. 4 : 1

Abb. 6: Gewichtsverlust bei unterschiedlicher
Fragmentgröße

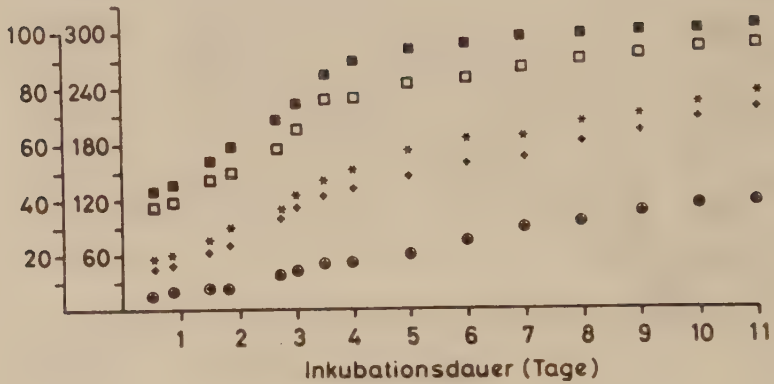
Gewichtsverlust
der Fragmente
% mg



Fragmentgröße: ■ = 0-1 mm (182,1 mg), □ = 1-2 mm
(181,8 mg), ● = 2-3 mm (182,4 mg), ○ = 3-4 mm (182,3 mg),
Cholesteringehalt 86 %, Lösungsmedium: GUDC : Lec. 4 : 1

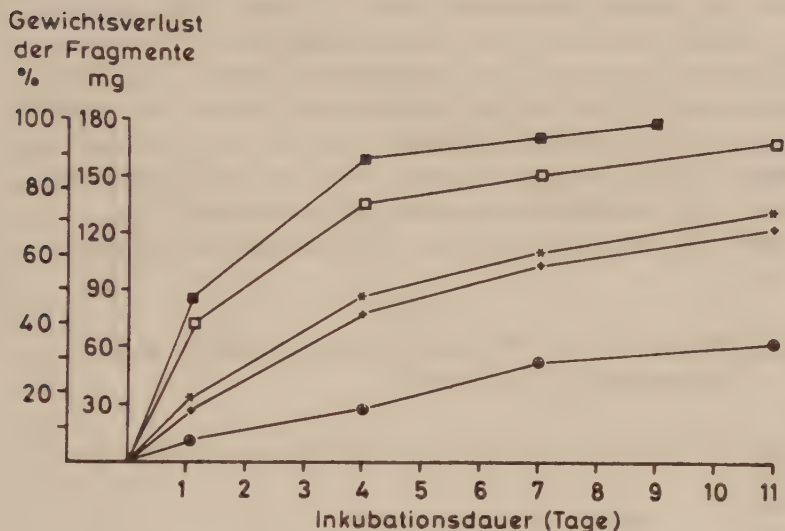
Abb. 7: Cholesterinverlust bei unterschiedlicher
Fragmentgröße

Cholesterin
in Lösung
% mg/dl



Fragmentgröße: ■ = 0-1 mm (182,3 mg), □ = 1-2 mm
(181,9 mg), * = 2-3 mm (182,1 mg), + = 3-4 mm (182,8 mg),
● = 4-5 mm (183,4 mg), Cholesteringehalt 86 %,
Lösungsmedium: GUDC : Lec. 4 : 1

**Abb. 8: Gewichtsverlust bei unterschiedlicher
Fragmentgröße**



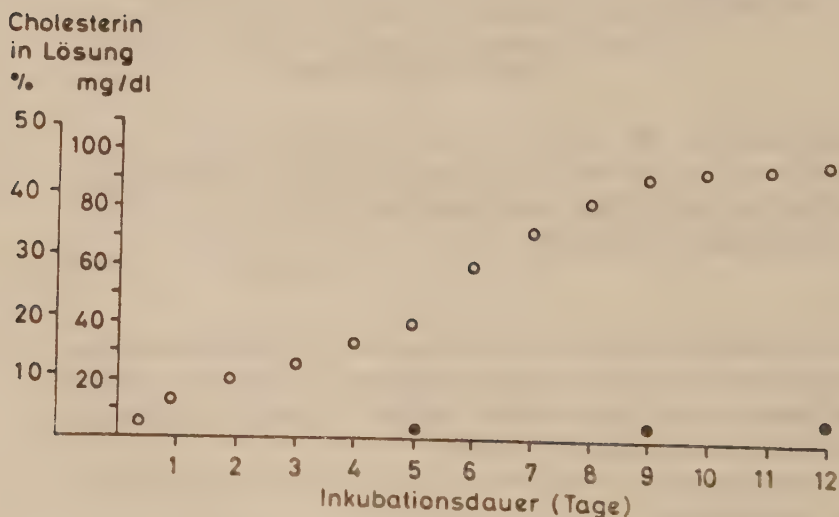
Fragmentgröße: ■ = 0-1 mm (182,3 mg), □ = 1-2 mm
(181,9 mg), * = 2-3 mm (182,1 mg), + = 3-4 mm (182,8 mg),
● = 4-5 mm (183,4 mg), Cholesteringehalt 86 %,
Lösungsmedium: GUDC : Lec. 4 : 1

**4.1.3 Ergebnis zu Frage 3: Wie ist das Auflösungsverhalten
verschieden großer Cholesterinsteinfragmente nach Stoß-
wellenbeschuß im Vergleich zu gleich großen unversehrten
Cholesteringallenblasensteinen?**

Zur Beantwortung dieser Frage wurden ebenfalls zwei Versu-
che durchgeführt.

4.1.3.1 Im ersten Versuch verlor das 123 mg schwere Fragment während einer Beobachtungsperiode von 12 Tagen 45 % seines Ausgangsgewichtes, während bei dem unversehrten, gleich großen und gleich schweren Stein nur eine Gewichtsabnahme von 4 % zu verzeichnen war (s. Abb. 10). Auffallend am Kurvenverlauf ist eine Zunahme der Auflösungs geschwindigkeit zwischen Tag 5 und Tag 9 (s. Abb. 9). Diese Beschleunigung fiel mit der Zerfall des Fragmentes in zwei große und ein kleineres Fragment am 5. Tag der Inkubation zusammen. Das kleinste Teilchen löste sich bis zum 9. Tag komplett auf. Die Gewichtsabnahme korreliert auch hier mit der Zunahme des gelösten Cholesterins in der Lösung (s. Abb. 9).

Abb. 9: Cholesterinverlust von Stein und Fragment gleicher Ausgangsgröße (ca. 7 mm)

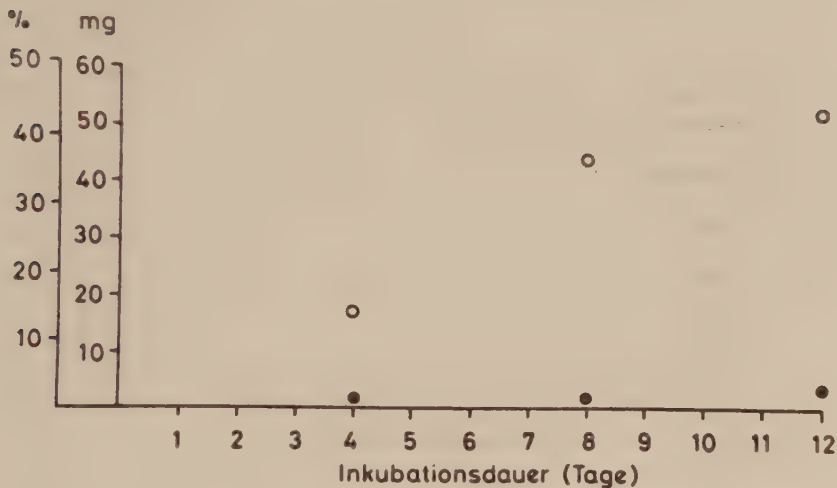


● = ganzer Stein 124 mg, ○ = Fragment 123 mg Ausgangsgewicht, Cholesteringehalt 86 % Lösungsmedium:

GUDC : Lec. 4 : 1

Abb. 10: Gewichtsverlust von Stein und Fragment gleicher Ausgangsgröße (ca. 7 mm)

Gewichtsverlust



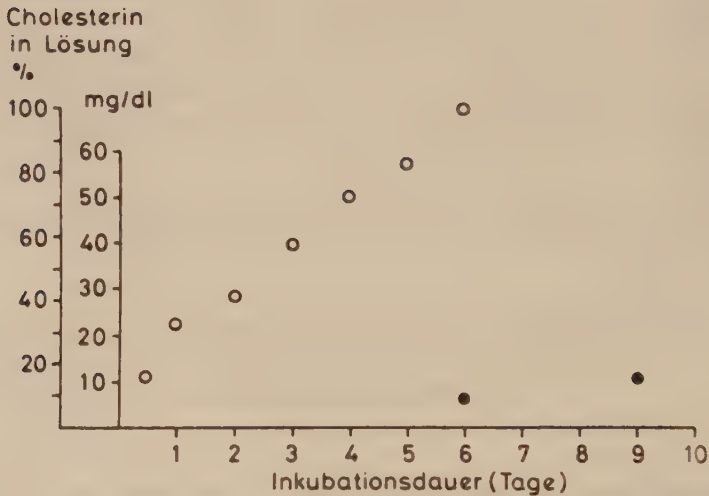
● = ganzer Stein 124 mg, ○ = Fragment 123 mg Ausgangsgewicht, Cholesteringehalt 86 %, Lösungsmedium:

GUDC : Lec. 4 : 1

4.1.3.2 Im zweiten Versuch wurde der Unterschied der Auflösungsgeschwindigkeit kleinerer Fragmente im Vergleich zu unversehrten Steinen gleicher Größe und gleichen Gewichtes besonders deutlich. Nach 6 Tagen hatten sich die beiden 2 mm - 2,5 mm großen und 19 mg bzw. 23 mg schweren Fragmente zu 100 % aufgelöst, während die unversehrten Steine we-

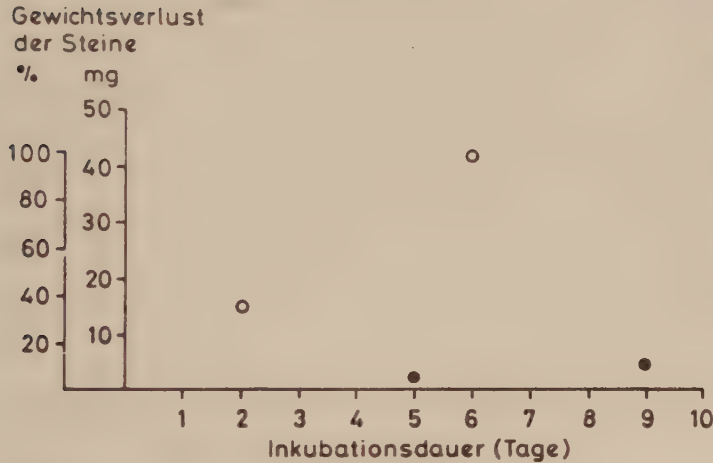
niger als 10 % ihres Ausgangsgewichtes verloren hatten (s. Abb. 11, 12).

Abb. 11: Cholesterinverlust von Steinen und Fragmenten gleicher Ausgangsgröße (2 - 2,5 mm)



● = ganze Steine 21 bzw. 22 mg, ○ = Fragmente 20 bzw. 23 mg, Cholesteringehalt 81 %, Lösungsmedium: GUDC : Lec. 4 : 1

Abb. 12: Gewichtsverlust von Steinen und Fragmenten gleicher Ausgangsgröße (2 - 2,5 mm)

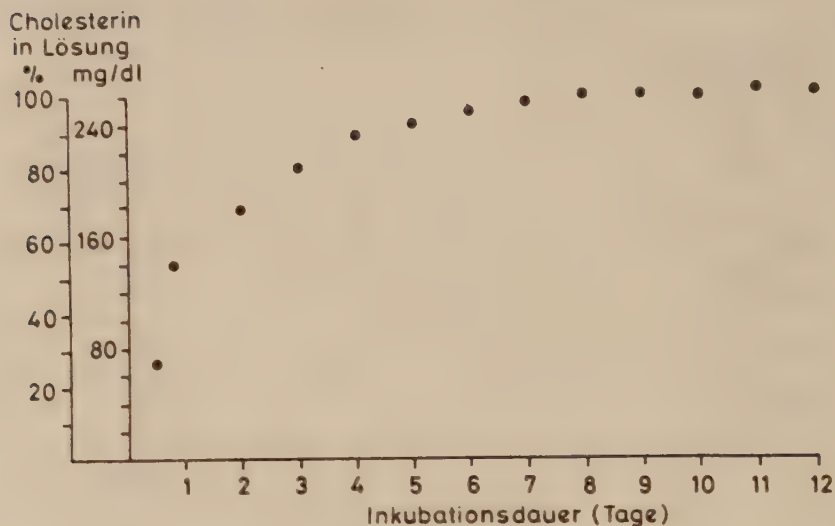


● = 2 ganze Steine 21 bzw. 22 mg, ○ = 2 Fragmente 20 bzw. 23 mg, Cholesteringehalt 81 %, Lösungsmedium: GUDC : Lec. 4 : 1

4.1.4 Ergebnis zu Frage 4: Wie verhält sich die Auflösungs-geschwindigkeit eines cholesterinarmen Steines nach Stoß-wellenzertrümmerung im Vergleich zu einem cholesterinrei-chen Stein?

Zur Beantwortung dieser Frage wurde ein Versuch durchge-führt (s. Abb. 13).

Abb. 13: Cholesterinverlust eines cholesterinarmen Steines (45 %) nach Fragmentierung mit 300 Stoßwellen

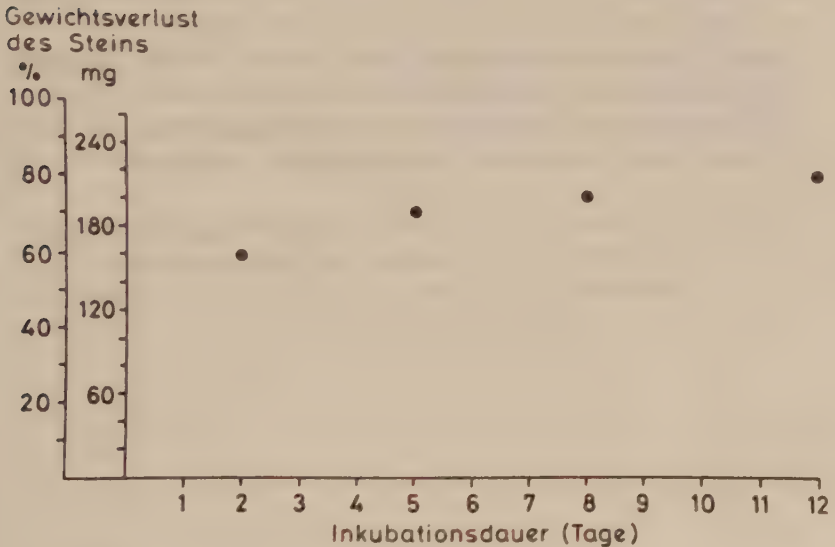


● = fragmentierter Stein 270 mg, Cholesteringehalt 45 %, LösungsmEDIUM: GUDC : Lec. 4 : 1

Nach 8 Tagen war der gesamte Cholesterinanteil in Lösung gegangen. Zu diesem Zeitpunkt betrug das Gewicht des Steines noch 70 mg (= 26 % des Ausgangsgewichtes). Obwohl der gesamte Cholesterinanteil in Lösung gegangen war, verringerte sich das Steingewicht zwischen dem 8. und 12. Tag um weitere 20 mg (s. Abb. 14). Teilt man die Auflösungsphasen in mehrere Zeitabschnitte auf, so kann man erkennen, daß sich die größte Auflösungsgeschwindigkeit innerhalb der er-

sten 24 h vollzog (55 % des gesamten Cholesteringehaltes). Von Tag 2 bis 5 lösten sich 38 % des Steincholesterins auf. Der Rest ging zwischen Tag 6 und 8 in Lösung.

Abb. 14: Gewichtsverlust eines cholesterinarmen Steines (45 %) nach Fragmentierung mit 300 Stoßwellen



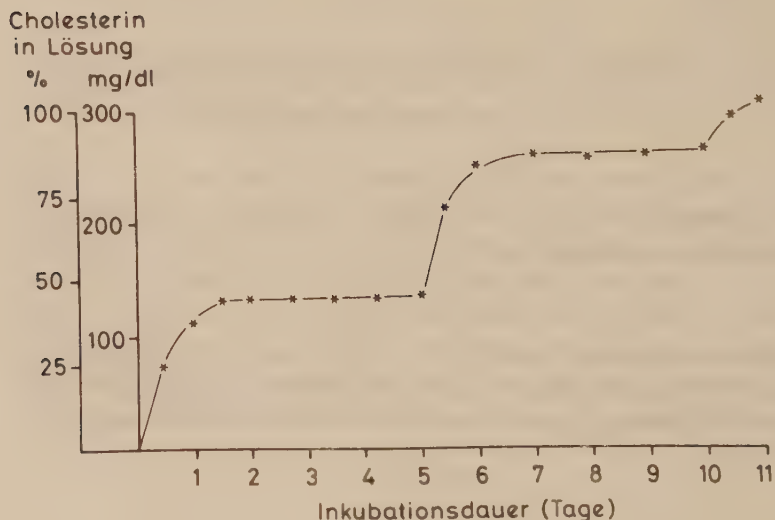
● = fragmentierter Stein (270 mg), Cholesteringehalt 45 %, Lösungsmedium: GUDC : Lec. 4 : 1

4.1.5 Ergebnis zu Frage 5: Wie ist das Auflösungsverhalten in einer gemischten Gallensalz-Lecithin-Lösung bestehend aus GUDC, GCDC und Lecithin im molaren Verhältnis

4 : 6 : 2,5 im Vergleich zu einer reinen GUDC-Lecithin-Lösung?

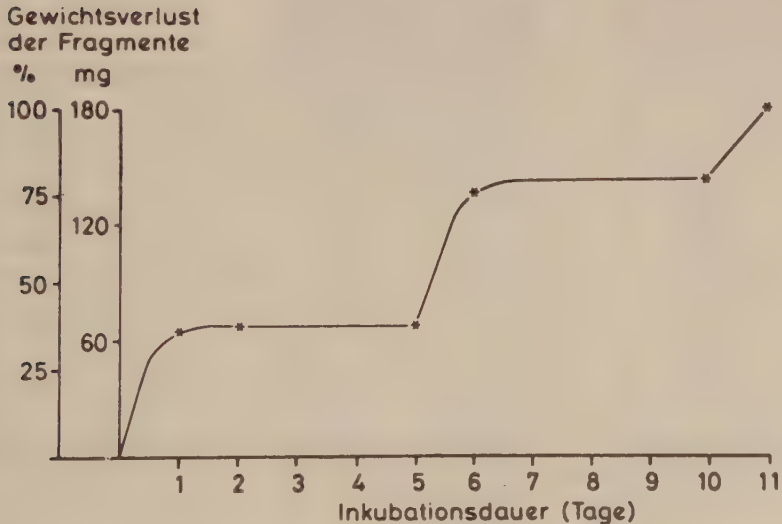
Wie aus den beiden folgenden Abbildungen zu ersehen ist (Abb. 15 und 16), lösten sich die 1 - 2 mm großen Fragmente zu Beginn genauso schnell auf wie in der GUDC-Lecithin-Lösung. Ab einer Konzentration von 135 mg/dl war die Auflösungskapazität erschöpft. Die Fragmente lösten sich nach zwei Tagen nicht weiter auf. Im Gegensatz zu der reinen GUDC-Lecithin-Lösung trübte diese Lösung auch nicht ein, d.h. es entstanden keine oder kaum liquid crystals (112). Zu diesem Zeitpunkt waren 43 % des ursprünglich im Stein vorhandenen Cholesterins in Lösung gegangen. Der Auflösungsvorgang stagnierte zwischen Tag 2 und 5. Beim Wech-

Abb. 15: Cholesterinverlust von Fragmenten zwischen 1 und 2 mm (182 mg) in verändertem Lösungsmedium
Lösungsmedium: mizellare GCDC : GUCD : Lecithin-Lösung im Verhältnis 6 : 4 : 2,5



sel der Lösung (an Tag 5 wurden die Fragmente in 50 ml frischer GUDC-GCDC-Lecithin umgelagert) lösten sich die Fragmente weiter auf. Bei einer Konzentration von diesmal 150 mg/dl trat wieder ein Stillstand im Auflösungsprozeß ein. Dies entsprach in etwa derselben Menge wie beim erstenmal. Auch diesmal trübte die Lösung nicht ein. Die restlichen 14 mg wurden in einer frischen Lösung innerhalb eines Tages aufgelöst.

Abb. 15: Gewichtsverlust von Fragmenten zwischen 1 und 2 mm (182 mg) in verändertem Lösungsmedium
Lösungsmedium: mizellare GCDC : GUDC : Lecithin-
Lösung im Verhältnis 6 : 4 : 2,5



4.2 Ergebnisse der Konzentrationsbestimmung und der polarisationsmikroskopischen Untersuchung der Lösung nach Steinkubation

Während des Auflösungs Vorganges trübte die Lösung in den ersten 36 h ein. Die farbige Abbildung 3A zeigt die Lösung zu verschiedenen Zeitpunkten.

1 = Lösung vor Lösungsbeginn

2 = Lösung nach Steinauflösung

3 = Lösung nach 2 h ruhigen Stehenlassens

4 = Lösung nach 2 h Zentrifugation bei 50.000 g und 37° C

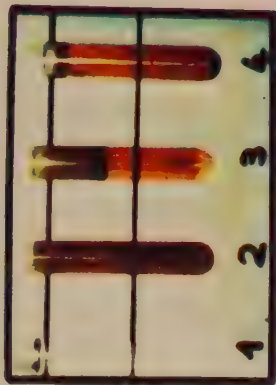
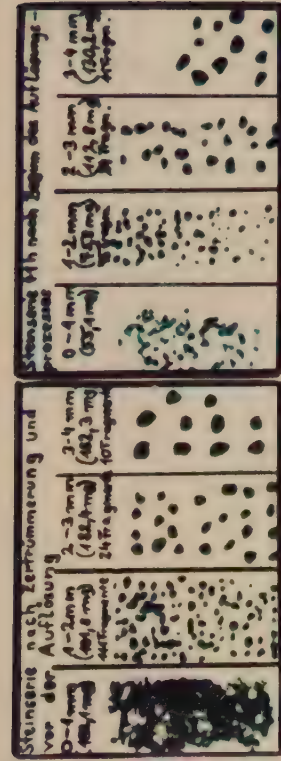
Wie aus der Abbildung zu ersehen ist, bildeten sich beim Stehenlassen Schichten aus, wobei der trübe Anteil zur Oberfläche hin aufstieg. Nach der Zentrifugation sedimentierte eine weitere Schicht an den Grund, während sich die oberste Schicht noch stärker konzentrierte.

Der Cholesteringehalt in dieser Schicht war mit deutlich über 1400 mg/dl um ein Vielfaches höher als in der mittleren Schicht, in der eine Konzentration von 89 mg/dl gemessen wurde.

Betrachtete man die oberste Schicht im Polarisationsmikroskop, so fand man viele doppelbrechende runde Strukturen, sog. Malteser Kreuze (s. farbige Abb. 3B und 3C).

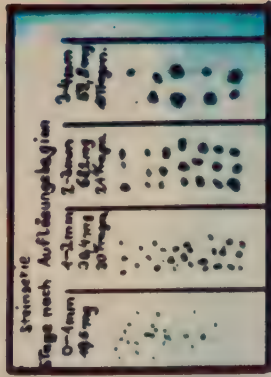
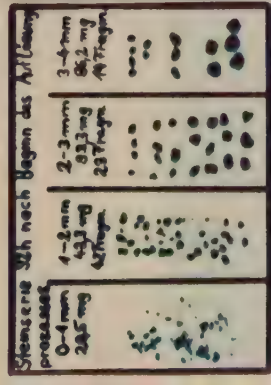
In der mittleren Schicht fanden sich keine doppelbrechenden Strukturen (s. farbige Abb. 3D). Flüssigkeiten und gemischte Mizellen sind nicht doppelbrechend und können daher nicht im Polarisationsmikroskop dargestellt werden.

In der untersten Schicht fand man im Polarisationsmikroskop Pigmente und solide Cholesterinkristalle mit ihrer typischen Parallelogrammstruktur und einer herausgebrochenen Ecke (s. farbige Abb. 3E).



4A

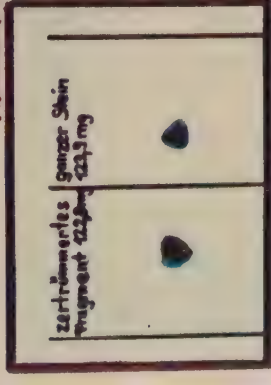
1B



4C

1D

PHOTOSERIE 2



2A

2B

2E

4.3 Ergebnis der elektronenmikroskopischen Untersuchung

Bei der elektronenmikroskopischen Untersuchung (YEOL Ltd., JEM 100 CM, Tokyo, Japan) dreier verschiedengradig behandelte Steine oder Steinfragmente wird die zunehmende Rißbildung und Zerfurchung mit steigender Stoßwellenapplikation deutlich.

Der unversehrte Stein zeigt bei 20facher Vergrößerung kaum eine Unregelmäßigkeit (Photo 2), während der gerade noch nicht zerfallene, nur mit 5 Stoßwellen anbehandelte Stein schon bei 11-facher Vergrößerung (Photo 3) kleine Rißspuren aufweist und bereits Anteile der äußeren Schicht verloren hat.

Beim Fragment sind bei 30-facher Vergrößerung bereits tiefe Risse und Unregelmäßigkeiten zu erkennen (Photo 4).

Bei 480facher Vergrößerung kommen am unversehrten Stein erste Unregelmäßigkeiten zum Vorschein (Photo 5), wohingegen man am anbehandelten Stein neben einem tiefen Riß deutlich erkennen kann, daß ein kleines Fragment kurz vor der Ablösung steht (Photo 6). Bei noch stärkerer Vergrößerung (1300-fach) zeigen sich am mit 5 Stoßwellen behandelten Stein eindrucklich viele kleine Risse, die die gesamte Oberfläche durchsetzen (Photo 7). Der Stein wirkt nicht mehr so kompakt wie der unversehrte Stein bei gleicher Vergrößerung (Photo 8).

Das Fragment weist demgegenüber insgesamt mehr größere Risse auf. In der 200-fachen Vergrößerung kann man sehr gut die vielen Eintrittsmöglichkeiten für die Gallensäure erkennen (Photo 9).



Photo 2: unversehrter Stein 20x

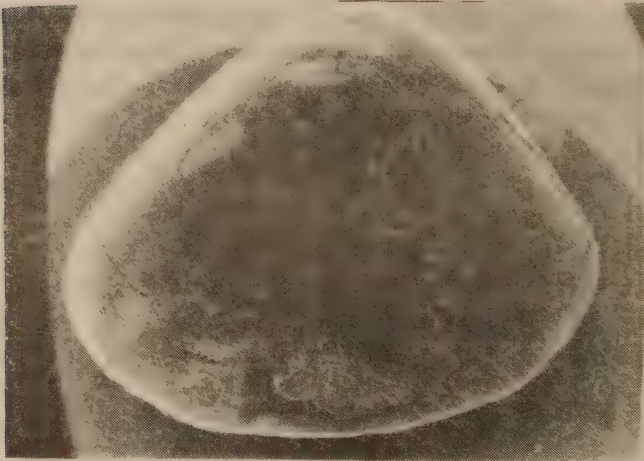


Photo 3: Stein nach 5 Stoßwellen 11x

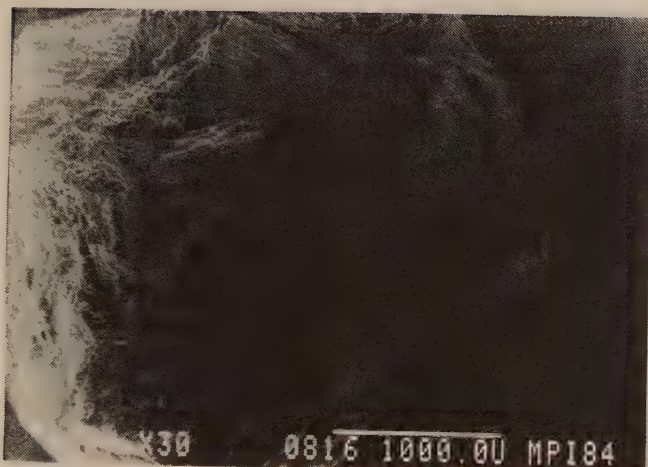


Photo 4: Fragment nach 30 Stoßwellen 30x

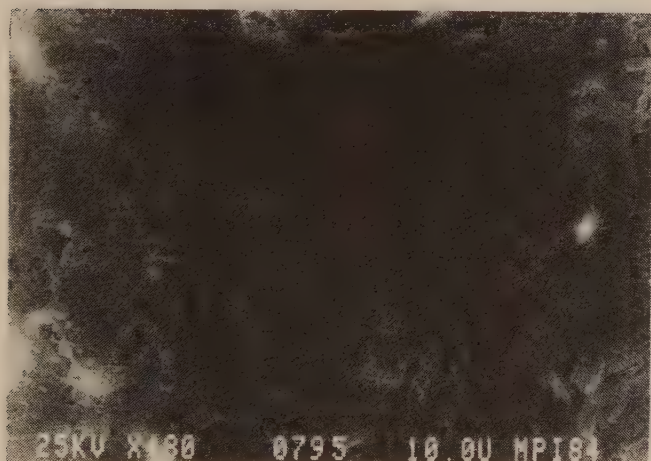


Photo 5: unversehrter Stein 480x



Photo 6: Stein nach 5 Stoßwellen 480x

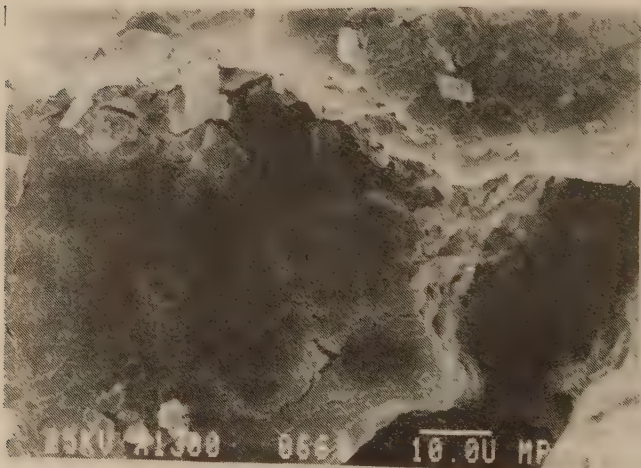


Photo 7: Stein nach 5 Stoßwellen 1300x

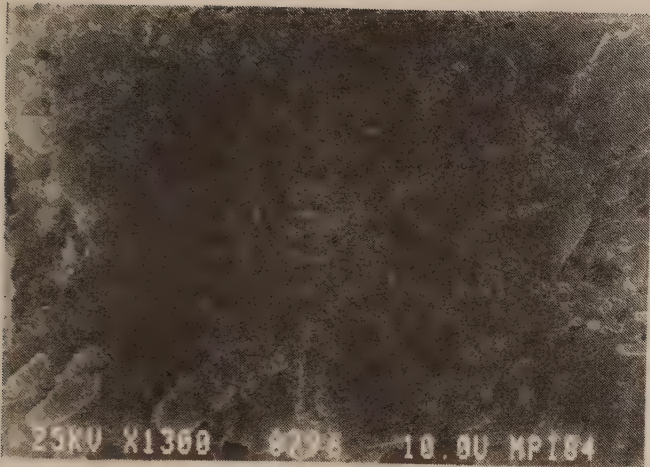


Photo 8: unversehrter Stein 1300x

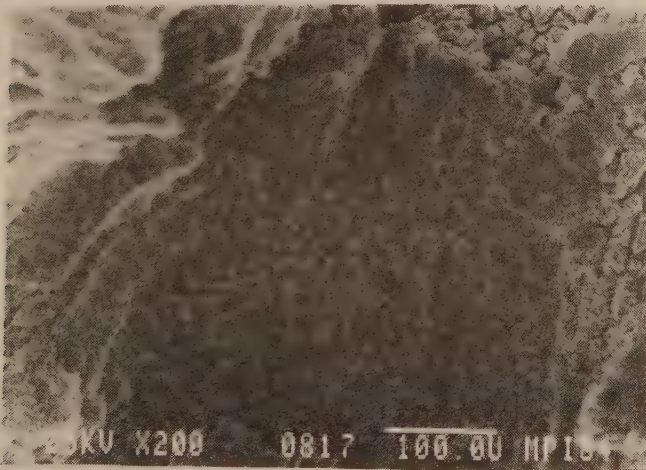


Photo 9: Fragment nach 30 Stoßwellen 200x

5. DISKUSSION

5.1 Modelldiskussion

In vitro Auflösungsversuche von Gallenblasensteinen in künstlich hergestellten Gallemodellen können niemals exakt in vivo Verhältnisse nachahmen. Andererseits kann für Versuche von mehreren Tagen Dauer natürliche Galle nicht verwendet werden, da deren Haltbarkeit auf Grund bakterieller Kontamination nur begrenzt ist.

Im letzten Jahrzehnt wurden viele künstliche Gallemodelle für in vitro Versuche verwandt. Reine Gallensäurelösungen (49, 67, 109, 122) und mizellare Gallensäure-Lecithin-Lösungen stellen dabei den Hauptanteil dar (51, 52, 66, 86, 89, 108). Lösungen, die nur Gallensäuren enthalten, ahmen jedoch nicht optimal die Auflösungsmechanismen der Galle nach, da reine Gallensäuremizellen nur eine geringe Kapazität besitzen, Cholesterin in Lösung zu halten (89).

Isaksson's in vitro Untersuchungen machten die Bedeutung der gemischten Gallensäuren-Lecithin Mizellen für eine gute Lösbarkeit des Cholesterins deutlich (59). Mufson (89), Carey, Igimi und Small wandten in ihren Versuchen (57, 112, 113) ein Herstellungsverfahren für gemischte Gallensäuren-Lecithin Mizellen an, das auch in dieser Arbeit übernommen wurde (s. 2.2.1). Wird dabei GUDC als Gallensäure eingesetzt, kann Cholesterin außer in mizellarer Form auch in Form von liquid crystals gelöst werden. Damit soll die Auflösungskinetik cholesterinhaltiger Gallenblasensteine unter UDC-Therapie nachvollzogen werden. Die Kapazität, Cholesterin mizellar zu lösen, ist in dem hier verwendeten Modell unter Anwendung des Korrekturfaktors von Carey für GUDC-reiche Lösungen (19) bei einer Cholesterinkonzentration von 2,21 mmol/l erschöpft. Dies entspricht für ein Lö-

sungsvolumen von 50 ml, wie es in dieser Arbeit verwandt wurde, einer Cholesterinmenge von 42,8 mg. Die in dieser Arbeit gemessenen Cholesterinkonzentrationen übersteigen jedoch deutlich diesen Wert. Das zusätzlich gelöste Cholesterin kann nicht mehr in Mizellen vorliegen. Um die verschiedenen Lösungsformen zu trennen, wurde die Lösung im Anschluß an den Auflösungsvorgang stehengelassen bzw. zentrifugiert (2 h bei 50.000 g). Es entstanden drei Phasen. In der volumenmäßig größten mittleren Schicht, in der Cholesterin nur in mizellarer Form vorliegen soll (112), wurde eine Cholesterinkonzentration von 89 mg/dl gemessen. Dies entspricht ziemlich genau dem von Carey ermittelten Sättigungswert für die mizellare GUDC-Lecithin-Lösung (19). Darüberhinaus wurden im Polarisationsmikroskop keine doppelbrechenden Strukturen entdeckt, wie dies für eine rein isotrope Phase zu erwarten war. Diese beiden Beobachtungen sprechen für die Annahme, daß Cholesterin in der mittleren Schicht lediglich mizellar gelöst war.

In der oberen trüben Phase wurde eine Cholesterinkonzentration über 1.400 mg/dl gemessen. Diese Schicht entspricht der Mesophase, in der liquid crystals vorliegen sollen (112). Liquid crystals unterscheiden sich von reinen soliden Kristallen dadurch, daß sie nicht dreidimensional periodisch angeordnet sind, das heißt nicht in einer festen Gitterstruktur vorliegen. Von reinen Flüssigkeiten unterscheiden sie sich dadurch, daß sie nicht isotrop, das heißt nicht nach allen Richtungen verschiebbar sind (82). Der anisotrope Charakter der liquid crystals kann im Polarisationsmikroskop verdeutlicht werden (56). Dabei erscheint der isotrope nicht doppelbrechende Anteil rosa, während sich der anisotrope doppelbrechende Anteil im ersten und dritten Quadranten blau, im zweiten und vierten Quadranten gelb darstellt (s. farbige Abb. 3B). In dem in

dieser Arbeit verwendeten Modell kann diese Struktur in großer Anzahl nachgewiesen werden. Wie die polarisationsmikroskopischen Beobachtungen und die Cholesterinkonzentrationsbestimmungen zeigen, haben sowohl liquid crystals als auch gemischte Mizellen für die Auflösung eine Rolle gespielt. In der untersten Schicht wurden im Polarisationsmikroskop doppelbrechende Strukturen nachgewiesen, bei denen es sich um Pigmente, Cholesterinkristalle (Parallelogramm mit herausgebrochener Ecke) und andere anisotrope Strukturen handelt.

Der Nachteil dieses Modells besteht darin, daß sich zu Beginn der Auflösungsversuche kein Cholesterin in der Lösung befindet, während die natürliche Galle bei Gallensteinträgern auch unter UDC-Therapie mit Cholesterin angesättigt ist. Daher können die absoluten Auflösungszeiten in den Versuchen dieser Arbeit nicht auf die natürlichen Verhältnisse übertragen werden. Es kann lediglich ein "relativer" Vergleich der Auflösungsgeschwindigkeiten unversehrter und fragmentierter Steine angestellt werden.

Darüberhinaus kommt selbst bei einer optimal ausgeschöpften oralen UDC-Therapie höchstens ein Gehalt von ca. 40 % - 60 % dieser Gallensäure in der menschlichen Galle zustande (58, 119). In den Versuchen 1 - 4 besteht jedoch ein Gehalt an GUDC von 100 %. Dadurch wird zwar die Kapazität der gemischten Mizellen erniedrigt (112), die liquid crystal Bildung jedoch erhöht. Aus diesem Grund wurde ein weiterer Versuch mit einem Gallensäureverhältnis GCDC : GUDC von 60 % : 40 % durchgeführt.

Ein weiterer Faktor, der in diesem Modell nicht nachgeahmt wurde, stellt die Anwesenheit nukleierender und antinukleierender Faktoren in menschlicher Galle dar. Ein Mißverhältnis dieser beiden Faktoren zueinander könnte einen zusätzlichen Effekt auf das Auflösungsverhalten ausüben.

5.2 Ergebnisdiskussion

Versuch 1: Ziel dieses Versuches war es, nachzuweisen, daß sich Fragmente eines Steines schneller auflösen als unversehrte Steine gleichen Gewichtes und gleicher Größe aus derselben Gallenblase. Ein weiteres Ziel war es, die Tendenz aufzuzeigen, daß sich mit Anhebung der Schußzahl und damit der stärkeren Fragmentierung der Steine auch eine höhere Auflösungsgeschwindigkeit erzielen läßt. Die Zertrümmerung cholesterinhaltiger Gallenblasensteine durch Stoßwellen war, wie Brendel et al schon nachwiesen, grundsätzlich möglich (16). Entscheidend war dabei, daß sich die Steine möglichst exakt im fokussierten Zentrum befanden. Je mehr Stoßwellen auf den Stein appliziert wurden, desto stärker zerfiel er. Wie aus den Abb. 3 und 4 zu entnehmen ist, löste der Stein sich umso schneller auf, je stärker er fragmentiert war. Dieses Ergebnis war auf Grund der physikalischen Tatsache zu erwarten, daß sich durch die Zertrümmerung des Steines bei gleichbleibendem Gesamtvolumen die Gesamtoberfläche des Steines vergrößert hat. Für die starke Auflösungsgeschwindigkeit während der ersten 24 h im Vergleich zu den Tagen danach spielt wohl die Abwesenheit des Cholesterins in der Lösung und damit der hohe Konzentrationsgradient zwischen der cholesterinfreien Lösung und dem cholesterinhaltigen Stein zu Beginn des Auflösungsprozesses eine wichtige Rolle. Weitere Erklärungen für diese Beobachtung werden in Versuch 2 diskutiert.

Versuch 2: In diesem Versuch sollte ermittelt werden, ob es eine Fragmentgröße gibt, ab der eine Auflösungstherapie besonders erfolgreich ist. Daher wurden Fragmente verschiedener Größe während des Auflösungsprozesses beobachtet. Aus dieser Versuchsanordnung wird deutlich, daß eine Zertrümmerung Fragmente erzeugen sollte, die 2 bzw. kleiner

als 2 mm sind (s. Abb. 5 - 8). In beiden Versuchen a und b liegt ein deutlicher Unterschied in der Auflösungsgeschwindigkeit ab der Fragmentgröße von 2 mm. Hier ist vor allem während der ersten 24 h im Vergleich zu größeren Partikeln die Auflösung besonders schnell. Als Erklärung für dieses Phänomen könnte das Modell von Noyes, Whitney (98) und Nernst (93) zur Auflösungskinetik von festen Substanzen dienen. Sie stellten eine Theorie über die Auflösung einer festen Substanz in der ungesättigten Lösung dieser Substanz auf. Auf Cholesteringallensteine und cholesterinhaltige Galle übertragen, verläuft die Auflösung in drei Schritten. In der unmittelbaren Umgebung des Steines befindet sich eine Galleschicht, die eine höhere Konzentration an Cholesterin enthält als der Rest der Galle. Die Mizelle muß durch diese Schicht diffundieren, löst dann ein Cholesterinmolekül heraus und diffundiert wieder durch die Grenzschicht zurück (s. Abb. 17). Der Vorgang des Herauslösens geht nach diesem Modell sehr schnell und ist nicht limitierend für den Auflösungsvorgang. Die Auflösung ist "diffusionskontrolliert".

Für diesen Fall ergibt sich für die Auflösungsrate folgende Formel.

$$J = \frac{A(\text{Ch}_s - \text{Ch}_c)}{\frac{h}{D}}$$

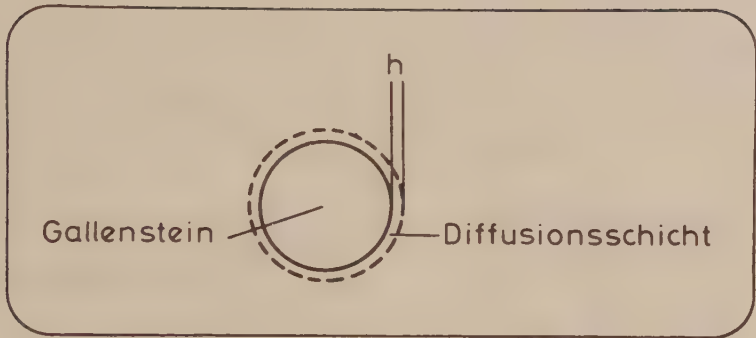
J = Auflösungsrate, A = Oberfläche des Steines, D = Diffusionskoeffizient des Cholesterins durch die Diffusionsschicht

Ch_s = Sättigungsgrenze des Cholesterins in der Lösung

Ch_c = Konzentration des Cholesterins in der Lösung

h = effektive Schichtdicke der Diffusionsschicht (s. Abb. 17).

Abb. 17

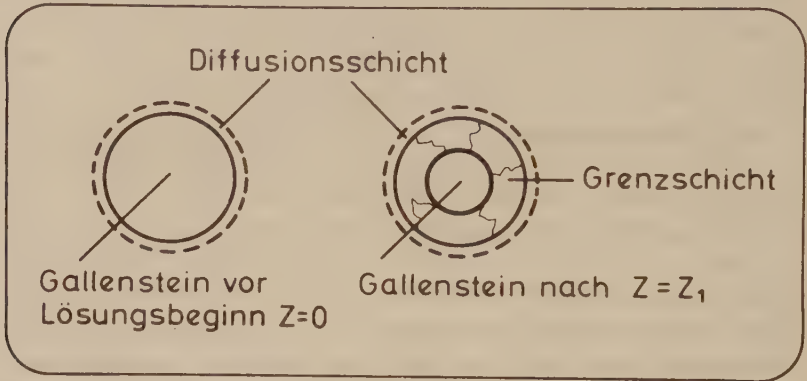


Die Auflösungsrate ist demnach direkt proportional zur Gesamtoberfläche des Steines, der Differenz zwischen Sättigungsgrenze und Konzentration des Cholesterins in der Lösung und dem Diffusionskoeffizienten, sowie indirekt proportional zur effektiven Diffusionsschichtdicke. Folgt man dieser Formel, müßten sich die Steine innerhalb von Tagen bis Wochen auflösen. Experimente haben jedoch gezeigt, daß die theoretische Auflösungsrate von der praktischen Auflösungsrate der menschlichen Gallensteine in der Galle um den Faktor 17 geringer ist (51).

Demnach muß ein weiterer Effekt für die Auflösungsrate eine Rolle spielen. Nach der Theorie von Higuchi, Hofmann et al ist die Auflösung nicht nur "diffusionskontrolliert" (51, 52). Das Herauslösen des Cholesterins aus der Gallensteinoberfläche geht nicht ungehindert schnell, da sich an der Gallensteinoberfläche nach dem Herauslösen nicht schnell genug ein neues Gleichgewicht ausbilden kann. Es entsteht also während des Auflösungsvorganges ein Wider-

stand für das Cholesterinkristall, in die Mizelle überzugehen. Die Auflösung ist in diesem Fall auch "grenzschicht-kontrolliert" (s. Abb. 18).

Abb. 18



Für diesen Fall gilt folgende Formel:

$$J = \frac{A(\text{Ch}_s - \text{Ch}_c)}{\frac{h}{D} + \frac{1}{P}} \quad (\text{Gleichung 2})$$

P = effektiver Permeabilitätskoeffizient

Je größer dabei die Permeabilität ist, desto kleiner wird der Grenzschichtwiderstand $\frac{1}{P}$ und desto mehr verläuft die Auflösung nach Gleichung 1. Higuchi et al stellten in ihren Untersuchungen fest (51), daß die Auflösungsrate für die innere Struktur der Gallensteine größer ist als die Auflösungsrate für die äußere Struktur. Er erklärte dies damit, daß sich an der Oberfläche der Steine eine Matrix ausbildet, die Einfluß auf die Permeabilität der Grenz-

schicht haben könnte.

Bei der Zertrümmerung der Gallensteine entstehen sehr kleine Fragmente auch aus dem Inneren der Steine. Als Erklärung für den Unterschied bei 2 mm könnte die zahlreiche Entstehung von Fragmenten aus dem Inneren der Steine dienen. Diese Fragmente sind an keiner Stelle von der den unversehrten Stein umgebenden Matrix bedeckt. Das Lösungsmedium kann somit ungehindert von allen Seiten an diesen Fragmenten angreifen.

Dadurch wäre zum Teil auch die hohe Auflösungs geschwindigkeit während der ersten 24 h erklärt. Ab diesem Zeitpunkt sind die meisten dieser kleinen reinen Cholesterinfragmente aus dem Inneren des Steines bereits aufgelöst. Die Auflösungs geschwindigkeit der mit Außenschicht verbliebenen Fragmente verläuft dagegen langsamer.

Die Vermutung, daß sich an der Oberfläche des cholesterinhaltigen Steines eine Grenzschicht ausbilden kann, wird durch eine Beobachtung von Whiting und Watts unterstützt. Sie untersuchten Gallensteine, die einer litholytischen Therapie mit CDC nicht zugänglich waren. Dabei fanden sie heraus, daß alle cholesterinhaltigen (über 70 %) Steine aus dieser Gruppe eine Oberfläche mit hohem Ca^{2+} -gehalt (Ca^{2+} -bilirubinats) besaßen. Sie folgerten daraus, daß diese Oberfläche verantwortlich für den therapeutischen Mißerfolg war (129). Besonders ältere Patienten (über 50 Jahre) mit jahrelanger Steinanamnese (über 6 Jahre) bilden Gallensteine mit hohem Ca^{2+} -gehalt besonders an der Oberfläche (131).

Cholesterinhaltige Gallensteine bilden diese Schichten jedoch nicht nur an der Oberfläche aus, sondern sie werden auch in konzentrischen Anordnungen innerhalb des Steines gefunden (14, 75). Daraus schlossen Whiting und Watts (129), daß die Anwesenheit dieser Ca^{2+} -haltigen Ringe in-

nerhalb des Steines nur die teilweise Auflösung der Steine bis zu dieser Schicht zuläßt.

Durch diese beiden Versuchsanordnungen wurde gezeigt, daß eine Verkleinerung der Steine die Auflösungsgeschwindigkeit wesentlich beschleunigt, und daß ein wünschenswerter Beschleunigungseffekt bei einer Fragmentgröße zwischen 0 und 2 mm erreicht ist. Ob nun aber die Auflösungsbeschleunigung allein durch die Zerkleinerung und damit die Vergrößerung der Gesamtoberfläche (Versuch 1) zustande kommt oder ob die Veränderung der Oberfläche durch Aufbrechen der äußeren Schale ebenfalls eine beschleunigende Wirkung besitzt, sollte die dritte Versuchsanordnung klären.

Versuch 3: Zu diesem Zweck wurde die Auflösungsrate von Fragmenten mit unversehrten gleichgewichtigen und gleich großen Steinen aus derselben Gallenblase verglichen. Im ersten Fall wurde ein circa 123 mg schweres und etwa 7 mm großes Fragment ausgewählt (s. Abb. 9 und 10). Im zweiten Versuch waren 2 circa 20 mg schwere und etwa 2 mm große Fragmente Ziel der Untersuchung (s. Abb. 11, 12). Beide Versuchsansätze zeigen, daß sich die Cholesterinpartikel nach einer Stoßwellenbehandlung schneller auflösen. Besonders erfolgreich ist dies für die 2 mm großen Fragmente der Fall. Die vergleichbaren unversehrten Steine aus derselben Gallenblase zeigten praktisch keine Auflösungstendenzen. Diese Beobachtung spricht dafür, daß, wie in Versuch 2 vermutet, auch die Oberflächenbeschaffenheit eine Rolle spielt. Allerdings ist in Versuch 2a für die Fragmente zwischen 3 und 4 mm (s. Abb. 5) auffällig, daß sie sich zunächst schneller auflösten als die Fragmente zwischen 2 und 3 mm. Interessanterweise zerfielen einige Fragmente aus dieser Gruppe, so daß sich die ursprünglich 10 Fragmente nach vier Tagen auf 14 vermehrt hatten (s. farbige Abb. 1A-D). Ähnliches geschah mit dem 123 mg schweren Fragment

aus Versuch 3, das nach fünf Tagen in drei Fragmente zerfallen war (s. farbige Abb. 2A-B). Ab diesem Zeitpunkt beschleunigte sich auch die Auflösungsrate (s. Abb. 9). Als Erklärung für dieses Phänomen könnten makroskopisch nicht sichtbare Risse dienen, die durch den Stoßwellenbeschuß entstanden, die aber noch nicht so ausgeprägt waren, daß der Stein weiter zerfiel. Erst durch Eindringen des Lösungsmediums zerfiel der Stein.

Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen mit und ohne Stoßwellenbehandlung unterstützen die Hypothese. Die Photos 2 - 9 verdeutlichen die enorme Rißbildung an den mit Stoßwellen behandelten Steinen. In den stärkeren Vergrößerungen sind vereinzelte Cholesterinkristalle (Photo 7) sichtbar, die möglicherweise sofort in Lösung gehen könnten. Hier liegt auch eine Erklärung in der hohen Auflösungsgeschwindigkeit zu Beginn. Darüberhinaus zeichnen sich größere Bruchstücke (Photo 6) von der Oberfläche ab. Solche Bruchstücke könnten diejenigen Fragmentteile sein, die sich nach Einfluß des Lösungsmediums vollständig abspalten. Offensichtlich nimmt also durch die Stoßwellenapplikation nicht nur die Gesamtoberfläche auf Grund einer Fragmentierung zu, sondern auch durch makroskopisch nicht sichtbare Rißbildungen. Faßt man die Ergebnisse dieser 3 Versuche zusammen, so kann man davon ausgehen, daß die Beschleunigung der Auflösungsrate wohl auf drei Ursachen zurückzuführen ist.

1. Durch die Fragmentierung verbessert sich das Verhältnis Oberfläche : Volumen zu Gunsten der Oberfläche.
2. Dieses Verhältnis wird durch eine starke makroskopisch nicht sichtbare Rißbildung erhöht.
3. Die Gallensäure-Lecithin-Lösung erhält durch das Aufbrechen einer möglicherweise cholesterinarmen Schale leichter Zugang zu cholesterinreichen Teilen des Stei-

nes. Inwieweit dies auch für einen relativ cholesterinarmen Stein zutrifft, sollte Versuch 4 zeigen.

Versuch 4: Die Abbildung 13 und 14 zeigen, daß in der mikzellaren GUDC-Lecithin-Lösung auch aus einem Stein mit mäßigem Cholesteringehalt (45 %) das gesamte Cholesterin herausgelöst werden kann, wenn dieser ausreichend durch Stoßwellen fragmentiert wird. Wie auch schon bei Versuchen mit cholesterinreichen Steinen beobachtet wurde, verlor der Stein dabei mehr an Gewicht als es seinem Cholesteringehalt entsprach. Dies ist am ehesten darauf zurückzuführen, daß die Gesamtmatrix durch das Herauslösen des Cholesterins soweit gelockert wurde, daß kleine cholesterinfreie Bruchstücke durch die Maschen der Körbchen in die Lösung fielen. In vivo hätte dies zur Folge, daß unter Umständen neue Nukleationskeime entstehen, sofern sie nicht zusammen mit der Galle ins Duodenum gelangen. Grundsätzlich kann man jedoch davon ausgehen, daß auch cholesterinarme Steine eine vermehrte Auflösungsstendenz nach der Fragmentierung durch Stoßwellen zeigen.

Versuch 5: Wie oben erwähnt kann in vivo niemals eine 100%ige Konzentration an UDC erzielt werden.

Im letzten Versuch wurde daher ein GCDC-GUDC-Lecithingemisch im Verhältnis von 6 : 4 : 2,5 hergestellt. Damit sollten Konzentrationsverhältnisse der Gallensäuren nachgeahmt werden, wie sie bei einer Therapie mit UDC in menschlicher Galle zustande kommen. Wie der Versuch zeigt (s. Abb. 15 und 16) ist die Kapazität dieser Gallensäuremischung, Cholesterin in Lösung zu halten, nicht so hoch wie in einer reinen UDC-Lösung. Dies war nach den Versuchen von Salvioli et al (112) zu erwarten. Der Versuch zeigt auch, daß bei einer Sättigung der Galle selbst die Fragmentierung der Gallensteine keinen zusätzlichen Einfluß auf die Auflösungsgeschwindigkeit hat. Denn sobald die Sätti-

gung erreicht war, stoppte der Auflösungsprozeß und setzte sich erst fort, nachdem die Fragmente wieder einer frischen ungesättigten Lösung ausgesetzt wurden. In vivo bedeutet dies, daß eine Untersättigung der Galle unerläßlich ist. Aus diesem Grund sollte der medikamentöse Einsatz 3 - 4 Wochen vor dem Einsatz der Stoßwellen erfolgt sein, da eine maximale Untersättigung erst nach dieser Zeit erreicht ist (72).

Auf Grund der Ergebnisse dieser Versuche sollte die Fragmentierung der Gallensteine ein erfolgversprechender Ansatzpunkt für die beschleunigte Litholyse sein.

5.3 Allgemeine Diskussion

Die in vivo Anwendung der ESWL bei menschlichen Cholesteringallenblasensteinen wirft allerdings zusätzliche Fragen auf. Anders als die Niere ist die Gallenblase ein Einzelorgan. Bei denkbaren Komplikationen, wie zum Beispiel einem Papillenverschluß, wird mit dem Pankreas ein anderes Einzelorgan unter Umständen lebensgefährdend in Mitleidenenschaft gezogen. Versuche an Hunden zeigten, daß kleine Partikel fragmentierter Gallenblasensteine spontan ins Duodenum abgehen, ohne Koliken zu verursachen (15, 16). Allerdings müssen diese Fragmente so klein sein, daß sie während der Kontraktion durch die Papilla vateri passen. Dies kann jedoch nicht absolut gewährleistet sein.

Für eine optimale Zertrümmerung muß der Stein exakt fokussiert sein, da der Fokusbereich auf ein Volumen von $1,5 \text{ cm}^3$ angelegt ist (23). Liegt der Stein nicht mehr in diesem Bereich, so wirken auf ihn nur noch schwächere Kräfte ein, die eine Fragmentierung in Frage stellen. Da die in Frage kommenden Cholesterinsteine im Röntgenbild nicht

sichtbar sind, wird die Ortung mit Hilfe eines Röntgenbildwandlers, wie sie bei Nierensteinen erfolgreich praktiziert wird, sehr schwer fallen. Aus diesem Grund wurde eine Ultraschallortung angestrebt, die allerdings lange Zeit wegen irreführender Artefakte und Schwierigkeiten in der exakten Lokalisation nicht eingesetzt werden konnte. In der Zwischenzeit sind immer bessere Ultraschallgeräte entwickelt worden. Ende 1985 berichteten Martin et al aus Lyon über eine erfolgreiche Zertrümmerung von Nierensteinen an 15 Patienten (76). Die Lokalisation der Steine erfolgte mit Hilfe eines Ultraschallgerätes, das die dreidimensionalen Koordinaten speichern konnte. Entsprechend der Lage der Steine konnte das Halbellipsoid computerassiiert so verlagert werden, daß der zweite Fokus genau auf den Stein gerichtet war. Auf diese Weise können Kosten und Strahlenbelastung eingedämmt werden. Trotz einer gut gelungenen Fragmentierung muß man immer damit rechnen, daß größere Fragmente zurückbleiben. Diese lösen sich zwar auch schneller auf als unversehrte Steine gleicher Größe, wie Versuch 3 zeigt. Doch die Gefahr einer Cholestase besteht in dieser Zeit dennoch. Eine gleichzeitige medikamentöse Gabe von Gallensäuren führt neben der notwendigen Cholesterinuntersättigung möglicherweise auch zu einer herabgesetzten Gallenblasenmotilität, die den Verbleib der Fragmente in der Gallenblase begünstigen würde (34).

Für einen erfolgreichen Einsatz des Lithotripters müssen all diese Probleme ausgeräumt sein. Bisher wurden 14 symptomatische Gallensteinpatienten mit Hilfe der ESWL behandelt. 10 Patienten hatten nach maximal 25 Wochen keine Steinreste mehr (114). Diese Ergebnisse sind erfolgversprechend. Die Kriterien, die bei der Auswahl dieser Patienten angesetzt wurden, treffen jedoch nur bei etwa 5 bis 10 Prozent aller Gallensteinpatienten zu. Ob die ESWL bei der

Therapie der cholesterinhaltigen Gallensteine einen festen Platz einnehmen wird, kann sicherlich erst in den nächsten Jahren entschieden werden, wenn eine größere Gruppe von Patienten behandelt worden ist.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Die vorliegenden in vitro Untersuchungen wurden durchgeführt, um festzustellen, ob durch eine Kombination aus Stoßwellenlithotrypsie und medikamentöser Behandlung cholesterinhaltiger Gallenblasensteine eine Verbesserung ihrer Auflösungsrate erzielt werden kann. Zu diesem Zweck wurden an Größe, Gewicht und Cholesteringehalt vergleichbare Gallenblasensteine aus derselben Gallenblase mit Hilfe eines Stoßwellenlithotrypters (Fa. Dornier) fragmentiert. Als Lösungsmedium dienten 50 ml einer mizellaren Glycoursodesoxycholsäure (GUDC)-Lecithin-Lösung. Nach 10 Tagen hatten intakte Steine nur 4 % ihres Cholesterinanteiles in die Lösung verloren. Dieser Anteil stieg im selben Zeitraum nach Applikation von 6 Stoßwellen auf 25 %, nach 200 Stoßwellen auf 83 %, nach 300 Stoßwellen auf 92 %.

Fragmente mit einem geringeren Durchmesser als 2 mm hatten nach einem Tag bereits 55 % ihres Cholesterinanteiles verloren, nach 10 Tagen sogar 99 %.

Auch größere Fragmentteile (hier 7 mm) verlieren mehr Cholesterin (45 % nach 10 Tagen) als unversehrte Steine (4 % nach 10 Tagen) vergleichbaren Gewichtes und Cholesteringehaltes und vergleichbarer Größe (aus derselben Gallenblase).

Bei Fragmenten eines cholesterinarmen Steines (45 %) ging nach 10 Tagen der gesamte Cholesterinanteil in Lösung. Auch bei verändertem Lösungsmedium mit niedriger Sättigungsgrenze verläuft der Auflösungsprozeß bis zum Erreichen der Sättigungsgrenze analog zum Lösungsmedium mit höherer Sättigungsgrenze.

Diese Ergebnisse zeigen daher, daß die Lithotrypsie cholesterinhaltiger Gallenblasensteine mit Hilfe extracorporal erzeugter Stoßwellen deren Auflösungsrate in einer mizella-

ren GUDC-Lecithin-Lösung erheblich verbessert. Dabei liegt die wünschenswerte Fragmentgröße bei 2 mm und kleiner. Ursachen für diese Beschleunigung sind erstens eine Verbesserung des Oberflächen-Volumenverhältnisses und zweitens eine makroskopisch noch nicht sichtbare aber elektronenmikroskopisch nachgewiesene Rißbildung. Durch diese Rißbildung werden eventuell vorhandene Schalen zerbrochen und der Zugang für die litholytischen Gallensäuren erleichtert. Auf Grund dieser Ergebnisse sollte in vivo eine Kombinationstherapie von ESWL und medikamentöser Litholyse erfolgversprechender sein als der alleinige Einsatz einer dieser beiden Verfahren.

7. LITERATURVERZEICHNIS

1. Adler, R.D., Bennion, L.J., Duane, W.L.:
Grundy S.M.:
Effects of low dose chenodeoxycholic acid feeding on
biliary lipid metabolism. Gastroenterology 1975,
68:326-34
2. Admirand, W.H., Small, D.M.:
The physicochemical basis of cholesterol gallstone
formation in man J. Clin. Invest. 1968, 47:1043-52
3. Aster v., E:
Geschichte der Philosophie.
ed. Kröner, Stuttgart, 1975, 33-54
4. Bachrach, N.H., Hofmann, A.F.:
Ursodeoxycholic acid in the treatment of cholesterol
cholelithiasis, part I and II. Dig. Dis. Sci. 1982,
27:737-76, 833-58
5. Bailitis, E.:
Der Schallimpuls eines Flüssigkeitsfunkens. Z. für
angew. Physik einschl. Nukleonik 1957, 9:429
6. Baiton, D., Davis, T.G., Evans, K.T., Gravelle, I.H.:
Gallbladder disease prevalence in a South Wales in-
dustrial town. The New England Journal of Medicine
Vol. 294, No. 21:1147-49
7. Baker, D.J.P., Gardner, M.J., Power, C.,
Hutt, M.S.R.:
Prevalence of gallstones at necropsy in nine british
towns. A. coll. Study Br. Med. J. 1979, 2:1389-92
8. Balzer, K., Goebell, H., Brever, N., Rüping, K.W.,
Leder, L.D.:
Epidemiology of Gallstones in a German Industrial
Town (Essen) from 1940-1975. Digestion 1986,
33:189-197
9. Barbara, L. and SIRMIONE Study:
Factors associated with gallstone disease: observa-
tions in the SIRMIONE Study in: Capocaccia
L. Rizzi G. Angelico F. Angelico M. Attili A.F., eds.
Epidemiology and prevention of gallstone disease
Lancaster, England MTP Inc. 1984, 207-209

10. Bateson, M.C.:
Calcification of radiolucent gallstones during treatment with ursodeoxycholic acid. Br. Med. J. 1981, 283:645-46
11. Bell, G.D., Dowling, R.H., Whitney, B., Sutor, D.J.:
The value of radiology in predicting gallstone type when selecting patients for medical treatment. GUT 1975, 16:359-64
12. Bennion, L.J., Ginsberg, R.L., Garnick, M.B., Bennet, P.H.:
Effects of oral contraceptives on the gallbladder bile of normal women. N. Engl. J. Med. 1976, 294:189-92
13. Bennion, L.J., Grundy, S.M.:
Risk factors for the development of cholelithiasis in man. N. Engl. J. Med. 1978 299:1161-7, 1221-7
14. Bills, P.M., Lewis, D.:
A structural study of gallstones. GUT 1975, 16:630-7
15. Brendel, W., Enders, G.:
Shock waves for gallstones: Animal Studies Lancet I May 7, 1983, 1054
16. Brendel, W., Enders, G., Delius, M.:
Experimental Destruction of Gallstones by Shockwaves. In: Paumgartner, G., Gerok, W., Stiehl, A. (eds.): Enterohepatic Circulation of Bile Acids (MTP Press Ltd. Lancaster) 1985:381-85
17. Burnstein, M.J., Ilson, R.G., Petrunka, C.N., Taylor, R.D., Strasberg, S.M.:
Evidence for a potent nucleating factor in the gallbladder bile of patients with cholesterol gallstones Gastroenterology 1983, 85:801-7
18. Burnstein, M.J., Vassal, K.N., Strasberg, S.M.:
Results of combined biliary drainage and cholecystokinin in cholecystography in 81 patients with normal oral cholecystograms. Ann. Surg. 1982, 196:627-32
19. Carey, M.:
Critical tables for calculating the cholesterol saturation of native bile: J. Lipid Research 1978, 19:945-955

20. Carey, M.C., Leighton, L.S.:
Formation of cholesterol gallstones In: Bouchier, L.A.D., Allan, R.N., Hodgson, H.J.F., Keighley, M.R.B., eds.: Textbook of gastroenterology, Eastbourne Ballière Tindall 1984, 1389-1400
21. Chaussy, Ch., Brendel, W., Schmiedt, E.:
Extracorporeally induced destruction of Kidney Stones by Shock Waves The Lancet II, Dec. 1980, 1265-68
22. Chaussy, Ch., Schmiedt, E.:
Extracorporeal shockwave lithoripsy (ESWL) for kidney stones. An alternative to surgery? Urol Radiol. 1984, 6:80-7
23. Chaussy, Ch., Staehler, G.:
Berührungsfreie Nierensteinzertrümmerung durch extracorporeal erzeugte fokussierte Stoßwellen. Beiträge zur Urologie Bd. 2, S. Karger AG, 1980
24. Cohen, S., Caplan, M., Gottlieb, L., Patterson, J.:
Liver disease and gallstones in regional enteritis Gastroenterology 1971, 60:237-45
25. Cole, W.H., Harridge, W.H.:
Disappearance of gallstone shadows in postoperative cholangiograms JAMA 1957, 164:238-43
26. Corrigan, O.I., Su, C.C., Higuchi, W.I., Hofmann, A.F.:
Mesophase formation during cholesterol dissolution in ursodeoxycholate-lecithin solutions: New mechanism for gallstone dissolution in humans. J. Pharm. Sci. 1980, 69:869-871
27. Danzinger, R.G., Hofmann, A.F., Schoenfield, L.J., Thistle J.L.:
Dissolution of cholesterol gallstones by chenodeoxycholic acid. New Engl. J. Med. 1972 286:1-8
28. Dolgrin, S.M., Schwartz, J.S., Kressel, H.Y. et al:
Identification of patients with cholesterol or pigment stones by discriminant analysis of radiographic features N. Engl. J. Med. 1973, 4:262-64

29. Doty, J.E., Pitt, H.A., Kuchenbecker, S.L., DenBesten, L.:
Impaired gallbladder emptying before gallstone formation in the prairie dog. *Gastroenterology* 1983, 85:168-74
30. Einarsson, K., Grundy, S.:
Effects of feeding cholic acid and chenodeoxycholic acid on colessterol absorption and hepatic secretion of biliary lipids in man. *J. Lipid Research* 1980, 21:23-24
31. Einarsson, K., Hellström, K., Kallner, M.:
Gallbladder disease in hyperlipoproteinemia *Lancet* 1975/I, 484-87
32. Einarsson, K., Nilzell, K., Angelin, B., and Leijð, B.:
Effects of ursodeoxycholic acid (UDCA) and chenodeoxycholic acid CDCA on bile acid kinetics and secretion rates of biliary lipids in man (abstr.) In: Paumgartner, G., Stiel, A., Gerok, W. (eds.) *Bile acids and cholesterol in health and disease*, 1983, 267-68
33. Erlinger, S., Le Go, A., Husson, J.M., Fevery, J.:
Franco-Belgian Cooperative Study of ursodeoxycholic acid in the medical dissolution of gallstone. A double blind randomized dose response study and comparison with chenodeoxycholic acid. *Hepatology* 4 No. 2, 1984, 308-14
34. Forgacs, I.C., Hilson, A.J.W., Maisey, M.N. et al:
Ursodeoxycholic acid treatment reduces gallbladder contraction in response to exogenous CCK-a possible explanation for relief of biliary pain during therapy. *Clinical Science* 1982, 62:21
35. Forßmann, B., Hepp, W.:
Stoßwellen in der Medizin. *Medizin in unserer Zeit*, 4. Jahrg., 1980, Nr. 1, 10-14
36. Forßmann, B., Hepp, W., Chaussy, Ch., Eisenberger, F., Wanner, K.:
Zertrümmerung von Nierensteinen mit fokussierten Stoßwellen. *Verhandlungen DPG (VI)* 11 K4 1976

37. Forßmann, B., Hepp, W., Chaussy, Ch., Eisenberger, F., Wanner, K.:
Eine Methode zur berührungsfreien Zertrümmerung von Nierensteinen durch Stoßwellen: Biomedizinische Technik 1977, Bd. 22, Heft 78:164-168
38. Fromm, H., Prafulla, A., Klein, A., Kuske, H.:
Use of a simple enzymatic assay for cholesterol analysis in human bile. J. Lipid. Res. 1980, 21:259-61
39. Fuchs, R.:
Die Heilkunde in den hippokratischen Schriften.
In: Handbuch der Geschichte der Medizin, Bd. I, ed. Puschmann, Th. Fischer, Jena 1902, S. 237
40. Fuchs, R.:
Geschichte der Medizin bei den ostasiatischen Völkern
In: Handbuch der Geschichte der Medizin, Bd. I, ed. Puschmann, Th., Fischer, Jena, 1902, S. 25
41. Gabriellini, J. et al:
Traitement de la lithiase vésiculaire par l'acide chénodeoxycholic: beaucoup de candidats, peu d'élus
Nouvelle presse médicale 1979, 8:132
42. Gallinger, S., Taylor, R.D., Harvey, P.R.C., Petrunka, C.N., Strasberg, S.M.:
Effect of mucus glycoprotein on nucleation time of human bile. Gastroenterology 1985, 89:648-58
43. Galvao, H., Menezes, M.L., Correia, J.P.:
The pervalence of gallstones in the Portuguese population. A necropsy study
Ital. J. Gastroent. 1981, 13:100-104
44. Goldmann, D.E., Hueter, T.F.:
Tabular data of the velocity and absorption of high-frequency sound mammalian tissues. J. Acoustic soc. Amer. 1956, 18:35
45. Gollish, S.H., Burnstein, M.J., Ilson, R.G., Petrunka, C.N., Strasberg, S.M.:
Nucleation of cholesterol monohydrate crystals from hepatic and gall bladder bile of patients with cholesterol gallstones. GUT 1982, 24:836-844

46. Gracie, W.A., Ransohoff, D.F.:
The natural history of silent gallstones. The innocent gallstone is not a myth. N. Engl. J. Med.
1982, 307:798-800
47. GREPCO (The Roman group for the epidemiology and prevention of cholelithiasis):
Prevalence of gallstone disease in an Italian adult female population. Am. J. Epid. 1984, 119:796-805
48. Häusler, E., Kiefer, W.:
Destruction of kidney stones by means of auto focussed guided shockwaves. 2nd European Congress on Ultrasonics in Medicine, München, 1975
49. Hardie, M.K., Green, W., Burnett, W., Walland, P.R., Hall-Brown, A.:
In vitro studies of gallstone dissolution using bile salt solutions and heparinized saline. Br. J. Surg. 1977, 64:572-76
50. Heaton, K.W., Redd, A.E.:
Gallstones in patients with disorders of the terminal ileum and disturbed bile salt metabolism
Br. Med. J. 1969/III, 494-96
51. Higuchi, W.J., Prakongpan, S., Young, F.:
Mechanisms of dissolution of human cholesterol gallstones. J. Pharm. Sci. 1973, 62:945-8
52. Higuchi, W.J., Sjuib, F., Mufson, D., Simonelli, A.P., Hofmann, A.F.:
Dissolution Kinetics of gallstones: Physical model approach. J. Pharm. Sci. 1973, 62:942-45
53. Hofmann, A.F., Thistle, J.L., Klein, P.D. et al:
Chenotherapy for gallstone dissolution II. Induced changes in bile composition of gallstone response
JAMA 1978, 239:1138-44
54. Holan, K.R., Holzbach, R.T., Hermann, R.E., Coopermann, R.M., Claffey, N.J.:
Nucleation time a key factor in the pathogenesis of cholesterol gallstone disease. Gastroenterology 1979, 77:611-7

55. Holzbach, R.T., Corbusier, C.:
Liquid crystals and cholesterol nucleation during equilibration in supersaturated bile analogs. *Biochimica et Biophysica acta* 1978, 529:436-444
56. Igimi, H., Asakawa, S., Watanabe, D., Shimura, H.:
Liquid crystal formation in ursodeoxycholate-rich human gallbladder bile. *Gastroenterologia Japonica* 1983, 18:93-97
57. Igimi, H., Carey, M.C.:
Cholesterol gallstone dissolution in bile: Dissolution kinetics of crystalline (anhydrate and monohydrate) cholesterol with chenodeoxycholate, ursodeoxycholate and their glycine and taurine conjugates. *J. Lipid. Research* 1981, 22:254-270
58. Igimi, H., Tamuese, N., Ikejiri, V., Shimura, H.:
Ursodeoxycholate - In vitro cholesterol solubility and changes of composition of human gallbladder bile after oral treatment. *Life Sci.* 1977, 21:1373-80
59. Isaksson, B.:
On the dissolving power of lecithin and bile salts for cholesterol in human bladder bile. *Acta Soc. Med. Uppsala*, 1953, 69:296
60. Iser, J.H., Dowling, R.H., Mok, H.Y.J., Bell, G.D.:
CDCA treatment of gallstones. A follow up report and analysis of factors influencing response to therapy. *N. Engl. J. Med.* 1975, 293:378-383
61. Iser, J.H., Murphy, G.M., Dowling, R.H.:
Speed of change in biliary lipids and bile acids with chenodeoxycholic acid-is intermittend therapy feasible. *GUT* 1977, 18:7-15
62. Janzon, L., Aspelin, P., Eriksson, S., Hildell, J., Trell, E., Ostberg, H.:
Ultrasonographic screening for gallstone disease in middle-aged women. *Scand J. Gastroent.* 1985 20:706-10
63. Kern, F.Jr., Everson, G.T., DeMark, B., McKinley, C., Showalter, R. et al:
Biliary lipids, bile acids and gallbladder function in the human female. Effects of pregnancy and the ovulatory cycle. *J. of Clin. Invest.* 1982, 68:1229-42

64. Key, P.H., Bonorris, G.G., Marks, J.W., Schoenfield, L.J.:
Biliary lipid synthesis and secretion in gallstone patients before and during treatment with CDCA.
J. Lab. Clin. Med. 1980, 95:816-26
65. Kibe, A., Holzbach, R.F., Larusso, N.F. et al:
Inhibition of cholesterol crystal formation by apolipoproteins in supersaturated model bile. Science 1984, 225:514-16
66. Kwan, V., Higuchi, W.I., Molokhia, A.M., Hofmann, A.F.:
Dissolution kinetics of cholesterol in simulated bile I. Influence of bile acid type and concentration, bile-acid-lecithin ratio and added electrolyte: J. Pharm. Sci. 1977, 66:1094-1101
67. Lahana, D.A., Bonorris, G.G., Schoenfield, L.J.:
Gallstone dissolution in vitro by bile acids, heparin and quaternary Amines. Surgery, Gynecology and Obstetrics 1974, 138:683-5
68. Langenbuch, C.:
Ein Fall von Exstirpation der Gallenblase wegen chron. Cholelithiasis. Heilung
Klin. Wochenschrift, 1882 19:725
69. Lee, S.P., Carey, M.C., LaMont, J.T.:
Aspirin prevention of cholesterol gallstone formation in prairie dogs. Science 1981, 211:1429-31
70. Lee, S.P., LaMont, J.T., Carey, M.C.:
Role of gallbladder mucus hypersecretion in the evaluation of cholesterol gallstones. J. Clin. Invest. 1981, 67:1712-23
71. Leuschner, U., Leuschner, M., Stromm, W.D. et al:
Our 10 years experience in gallstone dissolution. Comparison with the NCGS (USA) and TCGS (Japan Gastroenterology 1982, 82:1113 (abstract)
72. Lindström, C.G.:
Frequency of gallstone disease in a well defined swedish population.
Scand. J. Gastroenterology 1977, 12:341-46

73. Lund, J.:
Surgical indications in cholelithiasis: Prophylactic cholecystectomy elucidated on the basis of long term follow up on 526 non-operated cases. Ann. Surg. 1960, 151:153-62
74. Lyons, A.S., Petrucelli II, R.J.:
Die Geschichte der Medizin im Spiegel der Kunst.
ed. DuMont, Köln, 1980, 250-261
75. Malet, P.F., Weston, N.E., Trotman, B.W.,
Soloway, R.D.:
Cyclic deposition of calcium salts during growth of cholesterol gallstones: Scanning Electron Microscopy/1985/II 775-79
76. Martin, X., Mestas J.L., Cathignol, D.;
Dubernard, J.M.:
Ultrasound localisation for shock wave lithotripsy:
letter to the editor. Lancet II Nov. 2, 1985, 1005
77. Massarat, V.S., Klingemann, H.G., Kuppert, J. et al:
Incidence of gallstone disease in autopsy material
and outpatients from West Germany
Z. Gastroenterologie, 1982, 20:341-45
78. Maton, P.N., Ellis, H.J., Higgins, J.P. et al:
Hepatic HMGCoA reductase in human cholelithiasis:
Effects of chenodeoxycholic acids. Europ. J. Clin.
Invest. 1980, 10:325
79. Maton, P.N., Iser, J.H., Keuben, A. et al:
The final outcome on CDCA-treatment in 125 patients
with radiolucent gallstones. Factors influencing
efficacy, withdrawal, symptoms and side effects and
post-dissolution recurrence. Medicine (Baltimore)
1982, 61:86-97
80. Maudgal, D.P., Bird, R., Northfield, T.C.:
Optimal timing of doses of chenamic acid in patients
with gallstones. Br. Med. J. 1979, 1:922-23
81. Maudgal, D.F., Murphy, G.M., Blackwood, W.S.,
Northfield, T.C.:
Low cholesterol diet: Enhancement of effect of CDCA
in patients with gallstones. Br. Med. J. 1978,
2:851-583

82. McCrone, W.C., McCrone, L.B., Delly, J.G.:
Polarized Microscopy, Ann Arbor Science Publishers
Inc. 1978
83. McSherry, Ch.K., Ferstenberg, H., Calhoun, F.W.,
Lahmann, E., Virshup, M.:
The natural history of diagnosed gallstone disease
in symptomatic and asymptomatic patients
Annals of Surgery 1985, 202 (1): 59-63
84. Meredith, T.J., Hilson, A., Murphy, G.M.,
Dowling, R.H.:
An explanation for bile acid mediated gastritis and
the relief of dyspepsia with chenodeoxycholic (CDCA)
and ursodeoxycholic (UDCA) acid therapy. Clinical
Science, 1981; 60:22
85. Meredith, T.J., Williams, G.U., Maton P.N. et al:
Retrospective comparison of cheno and urso in the
medical treatment of gallstones. GUT 1982, 23:382-89
86. Molokhia, A.M., Hofman, A.F., Higuchi, W.I.,
Tuchinda, M., Feld, K., Prakongpan, S.,
Danzinger, R.G.:
Dissolution rates of model gallstones in human and
animal bile and importance of interfacial resi-
stance. J. Pharm. Sci. 1977, 66:1101-5
87. Mok, H.Y.I., von Bergmann, K., Grundy, S.M.:
Kinetics of the enterohepatic circulation during
fasting: Biliary lipid secretion and gallbladder
storage. Gastroenterology 1980, 78:1023-33
88. Moore, E.W., Celic, L., Ostrow, J.D.:
Interactions between ionized calcium and sodium
taurocholate: bile salts are important buffers for
prevention of calcium containing gallstones.
Gastroenterology 1982, 83:1079-89
89. Mufson, D., Triyanond, K., Zarembo, J.E.,
Ravin, L.J.:
Cholesterol solubility in model bile systems: Impli-
cations in Cholelithiasis. J. Pharm. Sci. 1974,
63:327-32
90. Mulley, jr., A.G.:
Shock-wave lithotripsy; assessing a Slam-Bang
Technology. N. Engl. J. Med. 1986, 314:845-847

91. Nakano, J., Nakano, K.:
Some cases of gallstones dissolved by bile acid preparations. J. National Council Communal Hospital. 1973, 70:25-32
92. Nakayama, T., Johnston, C.H.:
Fractionation of bile lipids with silicic acid column chromatography. J. Lab. clin. med. 1962, 59:364
93. Nernst, W.:
Theorie der Reaktionsgeschwindigkeit in heterogenen Systemen. Z. Physiologische Chemie 47:52-55
94. Newman, H., Northup, J., Rosenbaum, M.:
Complications in cholelithiasis
Amer. J. Gastroenterology 1968, 50:476
95. Northfield, T.C., Hofmann, A.F.:
Biliary lipid output during three meals and an overnight fast II. Effect of CDCA treatment in gallstone subjects. GUT 1975, 16:12-17
96. Northfield, T.C., La Russo, N.F., Hofmann, A.F.:
Biliary lipid output during three meals and an overnight fast I. Relationship to bile acid pool size and cholesterol saturation of bile in gallstone and control subjects. GUT 1975, 16:1-11
97. Northfield, T.C., Maudgal, D.P., Kupfer, R.N.M., Lanzini, A.:
Gallstone dissolution and recurrence In: Paumgartner, G., Gerok, W., Stiehl, A., Bile acids and cholesterol in health and disease (MTP Press ltd.) 1983, 371-79
98. Noyes, A., Whitney, W.R.:
The rate of solution of solid substances in their own solution. L. Am. Chem. Soc. 1897, 19:930-934
99. Olszewski, M.F., Holzbach, R.T.:
Liquid crystals in human bile.
Nature 1973, 242:336-7
100. Pederson, L., Bremmelgaard, A.:
Hepatic morphology and bile acid composition of bile and urine during CDCA therapy for radiolucent gallstones. Scand. J. Gastroenterology 1976, 11:386-9

101. Petit, J.L.:
Remarques sur les tumeurs formées par la bile retenue dans la vésicule du fiel et qu'on a souvent prises pour des abcès au foie. Mémoires, Acad. roy. Chir. 1743 1:255
102. Pitt, H.A., King, W., Mann, L.L. et al:
Prolonged parenteral nutrition increases the risk of cholelithiasis. Am. J. Surg. 1983, 145:106-12
103. Podda, M., Zuin, M., Dioguardie, M.L. et al:
A combination of cheno and ursodeoxycholic acid is more effective than either alone in reducing bile cholesterol saturation. Hepatology 1982, 2:334-39
104. Pomare, E.W., Heaton, K.W.:
Alteration of bile salt metabolism by dietary fibre (bran). Br. Med. J. 1973, 4:262-4
105. Pomare, E.W., Heaton, K.W., Low-beer, T.S., Espiner, H.J.:
The effect of wheat bran upon bile salt metabolism and upon the lipid composition of bile in gallstone patients. Am. J. Dig. Dis. 1976 21:521-6
106. Ponz de Leon, M., Carulli, N., Loria, P. et al.:
The effect of CDCA on cholesterol absorption. Gastroenterology, 1979, 77:223-230
107. Portman, O.W., Osuga, T., Tanaka, N.,:
Biliary lipids and cholesterol gallstone formation. Advances in Lipid Research 1975, 13:135-194
108. Prakongpan, S., Higuchi, W.I., Kwan, K.H., Molokhia, A.M.:
Dissolution rate studies of cholesterol monohydrate in bile-acid-lecithin solutions using the rotating disk method. J. Pharm. Sci. 1976, 65:685-9
109. Raedsch, Stiehl, A., Goetz, R., Walker, S., Kommerell, B.:
Kinetics of cholesterol gallstone dissolution by glycocheno-, glyoursodeoxycholic acid and mixtures of both in vitro. Z. Gastroenterologie 1981, 19:159-63

110. Rewbridge, A.G.:
The disappearance of gallstone shadows following the prolonged administration of bile salts.
Surgery 1: 1937, 395-400
111. Ruppini, D.C., Dowling, R.H.:
Is recurrence inevitable after gallstone dissolution by bile acid treatment. Lancet 1, 1982, 182-185
112. Salvioli, G., Igimi, H., Carey, M.C.:
Cholesterol gallstone dissolution in bile: Dissolution kinetics of crystalline cholesterol monohydrate by conjugated chenodeoxycholate-lecithin and conjugated ursodeoxycholate lecithin mixtures: dissimilar phase equilibria and dissolution mechanisms. J. of Lipid Research 1983, 24:701-20
113. Salvioli, G., Igimi, H., Carey, M.C.:
Crystalline cholesterol monohydrate dissolves in urso-rich bile by both liquid crystalline and micellar mechanisms: A phase equilibria explanation and possible clinical relevance (abstr.). Gastroenterology 1981, 80:1268
114. Sauerbruch, T., Delius, M., Paumgartner, G., Holl, J., Wess, O., Weber, W., Hepp, W., Brendel, W.:
Fragmentation of gallstones by extracorporeal shock waves. N. Engl. J. Med. 1986, 314:818-22
115. Schersten et al:
Medical treatment of gallstones. Scand. J. of Gastroenterology 1978, 13:129-131
116. Schoenfield, L.J., Lachin J.M. et al:
Chenodiol (chenodeoxycholic acid) for dissolution of gallstones. The national Cooperative Gallstone Study. A controlled trial of efficacy and safety. Ann. Intern. Med. 1981, 95:257-282
117. Small, D.M., Rapo, S.:
Source of abnormal bile in patients with cholesterol gallstones. N. Engl. J. Med. 1970, 283:53-7
118. Smallwood, R.A., Jablonski, P., Watts, J.M.:
Intermittent secretion of abnormal bile in patients with cholesterol gallstones. Br. Med. J. 1972, 4:263

119. Stiehl, A., Raedsch, R., Czygan, P., Götz R. et al:
Effects of biliary bile acid composition on cholesterol saturation in gallstone patients: treated with CDCA and/or UDCA. Gastroenterology 1980, 79:1192-98
120. Thistle, J.L., Hofman, A.F., Yu, P.Y.I., Ott, B.J.:
Effect of varying doses of chenodeoxycholic acid on bile lipid and biliary bile acid composition in gallstone patients. A dose response study. Am. J. Dig. Dis. 1977, 22:1-6
121. Thornton, J.R., Emmet, P.M., Heaton, K.W.:
Diet and gallstones: effects of refined and unrefined carbohydrate diets on bile cholesterol saturation and bile acid metabolism. GUT 1983, 2:2-6.
122. Tooouli, J., Jablonski, P., Watts, J. McK.:
Dissolution of human gallstones: The efficacy of bile-salts, bile salt plus lecithin and heparin solutions. J. of surgical research 1975, 19:47-53
123. Toor, E., Evans, D.F., Cussler, E.R.:
Cholesterol monohydrate growth in model bile solution. Proceedings of the National Academy of Sciences (USA) 1978, 75:6230-34
124. Valdivieso, V., Palma, R., Winkhaus, R., Antezana, C., Severin, C., Contreras, C.:
Effect of aging on biliary lipid composition and bile acid metabolism in normal chilean women. Gastroenterology 1978, 74:871-4
125. Vernick, L.J., Kuller, L.H., Lohsonthorn, P., Rychek, R.R., Redmond, C.K.:
Relationship between cholecystectomy and ascending colon cancer. Cancer 1980, 45:392-5
126. Wenckert, A., Robertson, B.:
The natural course of gallstone disease. Eleven year review of 781 non-operated cases. Gastroenterology 1966, 50:376-81
127. Whiting, M.J., Down, R.H.L., Watts. J. McK.:
Precision and Accuracy in the Measurement of the cholesterol saturation Index of Duodenal Bile. Gastroenterology 1981:533-8

128. Whiting, M.J., Bradley, B.M., Watts, J.McK.:
Chemical and physical properties of gallstones in
South Australia: implications for dissolution
treatment. GUT 1983, 24:11-15
129. Whiting, M.J., Jarvinen, V., Watts, J.McK.:
Chemical composition of gallstones resistant to
dissolution therapy with chenodeoxycholic acid
GUT 1980; 21:1077-81
130. Whiting, M.J., Watts, J.McK.:
Supersaturated bile from obese patients without
gallstones supports cholesterol crystal growth but
not nucleation. Gastroenterology 1984, 86:243-8
131. Wolpers, C.:
Auswahl der Gallensteinträger zur Litholyse. Leber
Magen Darm 1976, 6:43-6
132. Zahor, Z., Sternhy, N.M., Kagan, A., Nemura, K.,
Vanecek, R., Vichert, A.M.:
Frequency of cholelithiasis in Prague and Malmö.
An autopsy study. Scand. J. Gastroent. 1974, 9:3-7

DANKWORT

An erster Stelle möchte ich meinen Eltern danken, die mich auf meinem Weg zu dieser Dissertation unterstützten.

Mein ganz besonderer Dank gilt auch Professor T. Sauerbruch, der sich intensiv an der Durchführung dieser Arbeit beteiligte und mir während dieser Zeit nicht nur wissenschaftlich, sondern auch menschlich und medizinisch ein Lehrer geworden ist.

Ohne Dr. F. Stellaard wäre die Arbeit in dieser Form nicht möglich gewesen. Wenn nötig, gab er mir täglich chemischen Rat und sorgte darüberhinaus für ein freundschaftliches Arbeitsklima in seinem Labor. Besonders Frau Dyck, Frau König und Frau Nuber trugen zu dieser guten Atmosphäre bei und gaben mir manchen erleichternden praktischen Tip. Ihnen gilt mein herzlichster Dank.

Gleichsam danke ich auch herzlich Professor G. Paumgartner, der mir in entscheidenden Augenblicken mit erfahrener Rat zur Seite stand und dadurch wiederholt ein geistiger Ansporn war.

Vielen Dank sage ich auch Dr. M. Delius aus dem Institut für Chirurgische Forschung des Klinikums Großhadern, der mir bei der Fragmentierung der Gallenblasensteine durch den Lithotripter sehr geholfen hat.

Dankbar bin ich auch Professor K.-H. Wurster aus dem Städt. Krankenhaus München-Schwabing, der mich beim Aufbau einer umfangreichen Gallenblasensteinsammlung wesentlich unterstützte.

Bei der Anfertigung der elektronenmikroskopischen Photographien leistete mir der leider inzwischen verstorbene Dr. M. Claviez aus dem Max-Planck-Institut unerlässliche und wertvolle Hilfe.

Das technische Verständnis des Lithotriptermodells der Firma Dornier erleichterten mir Dr. W. Hepp und Dr. Wess durch ihre geduldigen Erklärungen.

Schließlich hätte diese Dissertation nicht entstehen können ohne die wertvolle Mitarbeit von Frau Depperich und Frau Neumann aus der graphischen Abteilung sowie das geduldige und sorgfältige Abtippen von Frau I. Schwarz. Allen danke ich auch an dieser Stelle herzlich.

Die GUDC und GCDC wurden von der Firma Diamalt zur Verfügung gestellt. Die Studie wurde unterstützt durch das BMFT, KZ 01VF41.

LEBENS LAUF

Am 7. April 1958 wurde ich als erstes von zwei Kindern des Ehepaares Dr. Karl Neubrand (Tierarzt) und Regina Neubrand, geb. Folger, in München geboren.

Von 1964 - 1968 besuchte ich die Münchner Volksschule am Agilolfingerplatz, von 1968 - 1978 das neusprachliche Albert-Einstein-Gymnasium in München.

1978 begann ich nach bestandem Abitur als Hundhammer-Stipendiat das Studium der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München. 1980 absolvierte ich das Physikum, 1981 die 1. Ärztliche Prüfung. Anschließend setzte ich das Studium für ein Jahr auf der Universität in Nizza/Frankreich fort. Ab 1982 kehrte ich an die LMU-München zurück, bestand 1984 die 2. Ärztliche Prüfung und arbeitete während des Praktischen Jahres an der Neurologischen Klinik in Großhadern, an der II. Med. Klinik in Großhadern und an der Chirurgischen Klinik in Ingolstadt. 1985 absolvierte ich die 3. Ärztliche Prüfung und erhielt am 17.07.1985 meine Approbation.

Zur Zeit leiste ich meinen 15-monatigen Wehrdienst an der Sanitätsakademie in München als Truppenarzt.

